

**Enzymatische Untersuchungen
der menschlichen Haut nach Verbrennungen
verschiedener Schweregrade**

von

Klaus Peter Spiegel

aus

Warnsdorf

1971

1972 ~~11~~ 11

Aus der Klinik für Haut- und Geschlechtskrankheiten
der Städtischen Krankenanstalten Nürnberg
Vorstand: Prof. Dr. med. G. Weber

Enzymatische Untersuchungen der menschlichen Haut nach Verbrennungen verschiedener Schweregrade

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen-Nürnberg



vorgelegt

von

Klaus Peter Spiegel

aus

Warnsdorf

Gedruckt mit Erlaubnis der Medizinischen Fakultät
der Universität Erlangen-Nürnberg



Dekan:

Professor Dr. G. Koch

Referent:

Professor Dr. G. Weber

Korreferent:

Professor Dr. O. Hornstein

Tag der mündlichen Prüfung:

2. November 1971

Meinen Eltern in Dankbarkeit gewidmet

INHALTSVERZEICHNIS

1. EINLEITUNG	5
2. LITERATUR	7
2.1. Kurzer chronologischer Abriß	7
2.2. Der energieliefernde Stoffwechsel der Epidermis	7
2.3. Zum Mechanismus und Inhalt der Hautblase	9
2.4. Untersuchungen an normaler Epidermis	11
2.5. Untersuchungen an verbrannter Epidermis	13
3. MATERIAL	14
3.1. Untersuchungsgut	14
3.2. Extrakterstellung	17
4. METHODIK	18
4.1. Abkürzungen und Enzymnomenklatur	18
4.2. Allgemeines	19
4.3. Enzymeinheit	20
4.4. Enzymaktivitätsbestimmungen	21
4.5. Bezugsgröße	25
5. UNTERSUCHUNGSERGEBNISSE UND BESPRECHUNG	26
5.1. Ergebnis der Untersuchung an normaler Epidermis	26
5.2. Ergebnis der Untersuchung an zweit- und drittgradig verbrannter Epidermis	29
5.2.1. Ergebnisse allgemeiner Art	29
5.2.2. Vergleich der Ergebnisse mit den Enzym- aktivitäten in normaler Epidermis	42
5.2.3. Vergleich der Ergebnisse mit den Unter- suchungen von Hershey und Mendle	46
6. ZUSAMMENFASSUNG	48
7. ANHANG	50
8. LITERATURVERZEICHNIS	52

1. EINLEITUNG

Die Bedeutung der Enzyme als Vermittler biochemischer Vorgänge ist außerordentlich groß; mit ihrer Hilfe verlaufen in vivo chemische Vorgänge, deren Verwirklichung in vitro oft nur unter Anwendung relativ großer Hilfsmittel (höherer Temperatur, höherer Druck) möglich ist.

Mit der Entwicklung verfeinerter klinisch-chemischer Methoden des Enzymnachweises gab man der Diagnostik ein entscheidendes Werkzeug in die Hand, ganz zu schweigen von der Möglichkeit, unbekannten pathophysiologischen Vorgängen bei den verschiedenartigsten Krankheitsprozessen auf die Spur zu kommen.

Das menschliche Plasma oder Serum enthält eine Fülle von nachweisbaren Enzymen, die verschiedenen Quellen entstammt. Infolge der hohen Enzymaktivitäten in den Zellen und der geringeren im Plasma besteht ein deutliches Aktivitätsgefälle zwischen intra- und extrazellulärem Raum, zu dessen Erhaltung ein ständiger Energieaufwand notwendig ist. Es ist daher verständlich, daß bereits bei geringen Zellschäden Enzyme in den extrazellulären Raum, das Plasma, austreten. Biochemische Untersuchungen verschiedener Organe und Gewebe haben gezeigt, daß neben der morphologischen Struktur auch im Bereich biochemisch meßbarer Größen eine quantitative und qualitative Ordnung herrscht. So entsprechen den Unterschieden der Funktion der Zellen aller Organe oder Gewebe Unterschiede ihres Stoffwechsels und damit ihrer enzymatischen Ausrüstung. Diese Unterschiede im Enzymgehalt sind in der Regel rein quantitativ, das heißt, dieselben Enzyme lassen sich meist in allen Organen nachweisen, aber ihre Aktivitäten zeigen von Organ zu Organ Abweichungen. Treten bei schweren Zellschäden die Enzyme aus dem gesamten Zellraum in das Serum über, so ist hier ein regelrechtes Abbild des Organ-Enzym-Musters zu finden.

Wohl in erster Linie aus Gründen der Materialgewinnung bemühte man sich zuerst um eine genaue Untersuchung der Enzymmuster der inneren Organe, während der Erforschung der menschlichen Haut und ihrer Teilstrukturen zunächst weniger Interesse entgegen gebracht wurde.

Im Zusammenhang mit Untersuchungen über das Verhalten der Serumenzyme bei Verbrennungskranken, die in unserer Klinik durchgeführt werden, ergab sich die Frage nach dem Einfluß von Verbrennungen auf die Enzymaktivität der menschlichen Haut nach Verbrennungen verschiedener Schweregrade. Diese, für die Transplantation bei Verbrennungen wichtige Frage, ist Gegenstand der vorliegenden Studie.

Bereits HERSHEY und MENDLE (15) weisen in ihrer Arbeit über "Quantitative histochemistry of burned and normal skin" auf die Bedeutung einer quantitativen Erfassung der Enzyme der menschlichen Haut hin.

Der Zweck solcher Forschungen wäre

- die Feststellung des Sitzes der biochemischen Läsion bei Verbrennungen;
- die Sammlung repräsentativer Meßdaten der Enzyme der Haut, die sowohl für die Haltbarkeit und Aufbewahrung der Haut als auch für die Weiterentwicklung der Therapie bei Verbrennungskranken von Nutzen sein könnte;
- die Sammlung dieser Meßdaten als Ausgangspunkt für ein Studium der enzymatischen Veränderungen, die mit Krebs, Heilung von Verbrennungen und anderen Wunden einhergehen, zu nehmen.

2. LITERATUR

Bevor auf unsere Untersuchung näher eingegangen wird, werden die bisherigen Erkenntnisse über den Enzymmechanismus der Epidermis im wesentlichen mitgeteilt.

2.1. Kurzer chronologischer Abriß

Erste Untersuchungen von WOHLGEMUTH und KLOPSTOCK (49), WOHLGEMUTH und NAKAMURA (50), sowie von GLASENAPP und LEONHARDI (12), LEONHARDI und STEIGLEDER (22) erbrachten den Nachweis der biologischen Oxydation in der Haut. In der Mitte der fünfziger Jahre wurde diese allgemeine Aussage über das Hautorgan im Detail untersucht mit dem Ziel, die einzelnen Hauptkettenenzyme nachzuweisen. Neben zahlreichen Einzeluntersuchungen zu diesem Fragenkomplex konnte WEBER und PFLEIDERER (45) und WEBER (37) zeigen, daß die Haut als ein autochthoner Produzent von Enzymen aufzufassen ist. In der Folgezeit stieg das Interesse an enzymchemischen Untersuchungen der Haut derart, daß bis etwa 1965 der energiereiche Stoffwechsel dieses Organs komplett nachgewiesen worden war. Ein neues Betätigungsfeld, zugleich auch Bestätigung der bisherigen Ergebnisse, eröffnete sich durch eine weitere Arbeit von WEBER (39), der den Beweis für eine über Jahre hinaus anhaltende Persistenz von Enzymen in pathologischer menschlicher Hornschicht erbrachte.

2.2. Der energieliefernde Stoffwechsel der Epidermis

Bei der Erforschung des biochemischen Mechanismus des Hautorgans meldete WEBER (37) zunächst Zweifel an der Auffassung an, die Haut

nur als ein Schutz- und exkretorisches Organ anzusehen. Warum sollte ein derartig dimensioniertes Organ nicht ein autochthoner Produzent der zu seinem Stoffwechsel notwendigen Enzyme sein, oder sollten die Fermente doch von den Kapillargefäßen der Kutis aus in die Epidermiszellen diffundieren (37)? In biochemischen Untersuchungen konnten WEBER und Mitarbeiter (34, 35, 41, 43) zeigen, daß die verschiedenen, gefundenen Enzyme in hoher Konzentration in der Epidermis vorhanden sind, aber in Richtung des peripheren Blutes in ihrer Aktivität abnehmen. Die von den Autoren geäußerte Vermutung, das Hautorgan als autochthonen Enzymproduzenten anzusehen, wurde von WEBER und PFLEIDERER (45) mittels Isoenzymelektrophorese nach der Methode nach WIELAND et al. (48) am Beispiel der Lactatdehydrogenase bestätigt. Durch dieses Verfahren war es möglich, eine für die menschliche Epidermis spezifische elektrophoretische Bandenverteilung der Lactatdehydrogenase aufzufinden. Diese war signifikant verschieden von der Anordnung der Lactatdehydrogenase-Banden des Erythrozytenhomogenates (45), das stellvertretend nach Untersuchungen von HESS (16) für das Serum steht. Beim Vergleich der Enzymkonzentration von Epidermishomogenat, Blaseninhalt und Blutserum wiesen WEBER und Mitarbeiter (43) ferner nach, daß die höchste Konzentration an Fermenten und Stoffwechselzwischenprodukten stets in der Epidermis als Ausdruck der hier verstärkten autochthonen Enzymproduktion aufzufinden ist.

Auch unter Berücksichtigung der histochemischen Ergebnisse (BRAUN-FALCO u. Mitarb. (2, 3, 5, 6, 7), PETTE u. Mitarb. (25, 26), VAN SCOTT (32)) kann so mit hinreichender Sicherheit angenommen werden, daß der energieliefernde Stoffwechsel der Haut sich von dem in anderen Geweben hinsichtlich der Anordnung bestimmter Reaktionsfolgen nicht unterscheidet (WEBER (38)). Wie dargestellt zeigte sich in qualitativer Hinsicht das für alle normalen Gewebe gemeinsame Grundgerüst enzymatisch katalysierter Reaktionsfolgen, bestehend aus Glykolyse, Pentose-

phosphat-Zyklus, Zitronensäure-Zyklus und Atmungskette. Fraglich blieb jedoch die quantitative Zuordnung der Enzymaktivitäten zueinander. In der von RASSNER (27) durchgeführten Untersuchung an Meerschweinchenepidermis wurde erstmals deutlich, daß das Aktivitätsmuster der von ihm untersuchten epidermalen Enzyme eine geordnete Gestalt besitzt. Wichtig scheint in diesem Zusammenhang seine Feststellung, daß sich die Meerschweinchenepidermis als ein Gewebe repräsentiert, das seinen hohen Energiebedarf als synthetisierendes Gewebe auf vorwiegend anaerobem Weg gewinnt. Diese Tatsache ist funktionell verständlich: die Epidermis als Oberflächenorgan hat nur durch ihre Basalzellschicht Kontakt mit dem gefäßführenden Bindegewebe.

Nach Meinung von SALFELD (30) können diese Ergebnisse auch auf menschliche Epidermis bezogen werden. Das Ordnungsprinzip ihrer enzymatischen Ausstattung unterscheidet sich in qualitativer Hinsicht nicht von dem in der Meerschweinchenepidermis. Quantitativ hingegen finden sich deutliche Unterschiede in der Zuordnung der Enzymaktivitäten zueinander. Salfeld (30) wies nach, daß die Energiegewinnung in der menschlichen Epidermis ebenfalls in erster Linie auf glykolytischem Wege erbracht wird. Für diese von untergeordneter Bedeutung scheint dagegen der Zitronensäurezyklus zu sein, wie dies neben den grundlegenden Isotopenuntersuchungen von FREINKEL (11) später auch RASSNER und BRAUN-FALCO (29) zeigten. Die Enzyme des Aminosäuremetabolismus und die am Pentosephosphatzyklus direkt oder indirekt beteiligten Enzyme sind in ihrer Aktivität gering. Im Gegensatz dazu stehen die Befunde in der Meerschweinchenepidermis, wo diese Stoffwechselwege zu einem beachtlichen Teil benützt werden (RASSNER (27)).

2.3. Zum Mechanismus und Inhalt der Hautblase

Zum Problem des Fermentreichtums der Blasenflüssigkeit und ihrer Entstehung lieferten STÜTTGEN und WÜST (33) u. a. (WEBER und

THEISEN (43)) folgende Ergebnisse. Hiernach ist die Blasenbildung an eine Änderung der Gefäßpermeabilität und Erhöhung des osmotischen Druckes in der Haut gebunden. Einer der Teilfaktoren, der im Rahmen der Blasengenese eine Rolle spielt, ist die Atmungshemmung, die durch Vesicantien über eine Blockierung von glykolytischen Fermenten durch Hemmung des Energiestoffwechsels wirksam wird. Bei allen untersuchten Blasenflüssigkeiten konnten sie eine höhere Fermentkonzentration im Blaseninneren als im Serum nachweisen. Sie betonten dabei ausdrücklich, daß diese Erhöhung sowohl für die spontan wie auch für die durch exogene Einwirkungen entstandenen Blasen gelte.

Unter dieser Perspektive kann der Mechanismus der Blasenentstehung durch Verbrennungen damit theoretisch analysiert werden. Wesentlich hierfür ist auch der histochemische Nachweis (4), daß bei der Bildung subepidermaler Blasen der subepidermale Grenzstreifen keinen Kontakt mit der Epidermis besitzt, sondern ausschließlich an die Kutis fixiert ist. Der Reichtum des Hautblasenserums an den zur Diskussion stehenden Enzymen und Metaboliten kann nun lediglich dadurch zustande kommen, daß aus der geschädigten Epidermis Fermente und Substrate in den Blasenraum diffundieren (43). Der Nachweis von Leukozyten im Hautblasenserum sollte nicht überbewertet werden, da ihre Enzym- und Metabolitenkonzentration keinesfalls ausreicht, um die aktuelle Substrat- und Fermentkonzentration im Blasen Serum zu erklären. Auch wiesen WEBER und GÜRTLER (44) nach, daß Leukozyten selbst nach deren intensiver Röntgenbestrahlung im isoliert strömenden Kaninchenblut nicht zu einer signifikanten Enzymfreisetzung veranlaßt werden.

2. 4. Untersuchungen an normaler Epidermis

2. 4. 1. Normalwerte der epidermalen Enzymaktivitäten

In welchem Ausmaß eine Verminderung der Enzymaktivitäten der Epidermis bei einer Verbrennung vorliegt, läßt sich nur eindeutig durch einen Vergleich mit Normalwerten, das heißt Enzymaktivitätsmessungen in gesunder Haut als Ausgangsbasis, feststellen.

Bestimmungen von Enzymaktivitäten des energieliefernden Stoffwechsels in normaler menschlicher Epidermis wurden bereits durchgeführt von GRIESEMER und GOULD (13), WÜST (53), CRUICKSHANK (9), KNAPP und Mitarb. (20), HERSHEY (14), WEBER (38), WEBER und KORTING (46), FINDLAY (10), SALFELD (30, 31) und RASSNER (28). Wegen der meist unterschiedlichen Methoden und des ungleichen Untersuchungsgutes sind die bisher gefundenen Enzymaktivitätswerte nicht geeignet, mit den in dieser Arbeit aufgezeigten Werten in Beziehung gesetzt zu werden. So entsprechen zum Beispiel die von SALFELD (30) und RASSNER (28) gefundenen Meßwerte Aktivitätseinheiten in "mU/Gramm Frischgewicht". Diese Bezugsgröße der Aktivitätseinheit ("Gramm Frischgewicht") steht im Gegensatz zu der von uns gewählten Bezugsgröße ("10 mg Gesamtstickstoff"). Wie BRAUN-FALCO und WEBER (8) und WEBER und Mitarb. (43) darlegten, ist eine Bezugnahme auf das Gewicht des Untersuchungsmaterials mit Fehlerquellen verknüpft. Sie konnten nämlich in orientierenden Trocknungsbestimmungen Gewichtsschwankungen der Epidermis von 20% bis zu etwa 50% beobachten. Diese Feststellung veranlaßte uns, als Bezugskonstante unserer Fermentmessungen den Gesamtstickstoffgehalt der jeweiligen Proben zu wählen, da dieser einerseits nach KJELDAHL in exakter Weise festgestellt werden kann, andererseits eine echte Relation zum Eiweißgehalt der Untersuchungslösungen liefert.

2.4.2. Zum Problem der Gewinnung normaler Epidermis

Aus Gründen der besseren Vergleichbarkeit mit den Werten bei pathologisch veränderter Epidermis war es notwendig, die als Normalwerte zu bezeichnenden Aktivitäten in der gesunden Haut unter gleichen Bedingungen zu bestimmen. Die Epidermislappen wurden nicht nach der Methode von VAN SCOTT (32), sondern mit Hilfe eines Dermatoms gewonnen. Dabei stellte sich folgende Frage: Inwieweit ist der kaum zu vermeidende Coriumanteil des Epidermislappen als Störfaktor des Meßergebnisses anzusehen?

Die Cutis ist im Gegensatz zur Epidermis relativ enzymarm, wie Untersuchungen von HERSHEY et al. (14, 15), WEBER und KORTING (46) und RASSNER (27) nachgewiesen haben. Qualitativ sind in der Cutis jedoch die gleichen Enzyme wie in der Epidermis zu finden. Bei den von HERSHEY und Mitarb. (14) durchgeführten differenzierten Untersuchungen an Epidermis und Cutis zeigte sich, daß auffallende quantitative Unterschiede zwischen diesen beiden Geweben bestehen. Die Epidermis ist in hohem Maße aktiv. Die verschiedenen Stoffwechselenzyme, soweit sie untersucht wurden (Lactatdehydrogenase, Malatdehydrogenase, Aldolase, Glucose-6-phosphatdehydrogenase, Saure Phosphatase), sind fünf- bis zehnmal aktiver in der Epidermis als in der Cutis. Es ist daher einzusehen, daß Homogenate oder Lappen, die eine große Menge inaktiver Cutis enthalten, eine relativ mäßige Enzymaktivität zeigen werden. Andere Enzyme, die einzig mit den biochemischen und physiologischen Funktionen der Cutis verbunden sind, werden in dieser Schicht der Haut zweifellos sehr aktiv sein (14).

Der im Abschnitt 5. 1. durchgeführte Versuch einer quantitativen Lösung der oben angeschnittenen Frage zeigt, daß neben dem Coriumanteil des Epidermislappen wohl noch andere "Störfaktoren" in Erwägung gezogen werden müssen.

2.5. Untersuchungen an verbrannter Epidermis

Über das quantitative Verhalten der Haut bei Verbrennungskranken ist wenig bekannt.

So stellte PETERS (24) bei seiner Suche nach einer "biochemical lesions" nach Wärmeeinwirkung zunächst fest, daß das Aussetzen von Homogenaten einer bestimmten Temperatur über eine gewisse Zeit ($50^{\circ}\text{C}/5$ Minuten) einen Verlust von 71,4% Sauerstoff verursachte, der indirekt über den Wasserstoff der Äpfelsäure (L-Malat) transportiert wird.

HERSHEY und Mitarb. (15) setzten Verbrühungen mit 50°C heißem Wasser, das sie 5 Minuten lang auf die Gesäßhaut einwirken ließen. Diese Haut, eine halbe bis eine Stunde nach der Verbrühung entfernt, verglichen sie mit dem angrenzenden nicht verletzten Bezirk. Die Autoren konnten in detaillierten Untersuchungen keine signifikanten Unterschiede zwischen verbrannter und normaler Haut erkennen. Dieses überraschende und zugleich enttäuschende Ergebnis schloß nach Meinung von Hershey und Mitarb. nicht die Einmischung anderer vitaler Enzymsysteme, die es vielleicht noch zu entdecken gilt, aus.

Neuere histochemische Befunde bei Verbrennungen 2. Grades wurden von NEDWICH und Mitarb. (23) mitgeteilt. Bei gesunden freiwilligen Männern wurden am Oberschenkel Verbrennungen 2. Grades im Durchmesser von 1 cm gesetzt. Ohne Anaesthesie exzidierte man die Hautstücke 1 Stunde, 6 Stunden, 27 Stunden, 8 Tage und 15 Tage danach in toto. Dabei fand sich eine erhebliche Vermehrung der Enzymaktivitäten in den Anhangsorganen der Haut und im Kapillarnetz der Lederhaut unmittelbar in der an die Verbrennung sich anschließende Phase. Dies betraf besonders die Adenosin-Triphosphatase. Als Ursache dafür wurde der vermehrte Flüssigkeitstransport durch die Kapillarwandungen in das Gewebe angesehen. Im neugebildeten Epithel fehlten bis zum 15. Tag nach der Verbrennung die oxydativen Enzyme.

3. MATERIAL

3.1. Untersuchungsgut

Zur Untersuchung kamen 21 Patienten, die bis auf eine Patientin sämtlich stationär behandelt wurden. Es wurde bei den Verbrennungskranken mit Verbrennungen 2. Grades einerseits das Blasenserum durch Punktion der intakten Hautblase entnommen, zum anderen die Blasendecke mit einer sterilen Schere abgetrennt. Bei Verbrennungen 3. Grades wurde die geschädigte Epidermis durch Exzision gewonnen. Das Untersuchungsgut kam, getrennt nach Blasenserum und geschädigter Haut, sofort in sterile Glaskölbchen, die bis zur Weiterverarbeitung im Gefrierfach aufbewahrt wurden.

Wie Tabelle 1 zu entnehmen ist, sind die Geschlechter etwa zu gleichen Teilen vertreten (Männer 52%, Frauen 48%). Die Altersverteilung bewegt sich zwischen 16 und 73 Jahren. In 57% der Fälle handelte es sich um Verbrühungen, wobei die durch kochendes Wasser hervorgerufenen an erster Stelle rangierten (Tabelle 2). Bei etwa 38% des Krankengutes war die Verbrennung durch direkte Flammeneinwirkung gesetzt. 5% der Patienten verletzten sich mit extrem heißen Materialien, in einem Fall mit flüssigem Metall, im anderen Fall mit Bitumen. In 43% der Fälle handelte es sich um zweit- bis drittgradige Verbrennungen, während reine erst- oder drittgradige Verbrennungen nicht dabei waren. 24% der Patienten hatten ausschließlich eine Verbrennung 2. Grades. Bei 14% der Unfälle waren alle drei Verbrennungsgrade aufzufinden, die übrigen Patienten (14%) wiesen Verbrennungen 1. bis 2. Grades auf. Die flächenhafte Ausdehnung der Verbrennungen bewegte sich zwischen 2% und 60% der gesamten Körperoberfläche. In 90% der Fälle konnte eine Blasendecke gewonnen, in 71% eine Hautblase punktiert und in 19% eine Exzision vorgenommen werden. Der Zeitfaktor, das heißt die vom Zeit-

Tabelle 1

Details zu den einzelnen Patienten und dem entsprechenden Untersuchungsgang

V = Verbrühung

F = Flammeneinwirkung

H = Heiße Materialien

Patient	Geschlecht		Alter	Noxe	Grad der Verbrennung	in Prozent	Untersuchg. von			Zeitfaktor (vom Unfall bis zur Untersuchung)	
							Blasendecke	Blasenserum	Exzision		
	♂	♀					A	B	C	in Min.	in Std.
a	b	c	d	e	f	g	h	i	k	l	m
1	+		44	H	II/III	2	+		+	30	0,50
2	+		47	F	II/III	8	+	+		165	2,75
3		+	62	V	I/ II	3	+			4 490	76,50
4		+	39	V	II	-	+	+		90	1,50
5		+	61	F	I-III	8	+	+		60	1,00
6	+		64	F	I/ II	4	+	+		60	1,00
7	+		16	F	II/III	4	+	+		75	1,25
8		+	25	V	II	4	+	+		1 545	25,75
9		+	45	V	II	4	+			60	1,00
10	+		45	H	I/ II	-	+	+		315	5,25
11	+		35	F	II/III	2	+			75	1,25
12	+		33	F	I-III	48	+	+	+	55	0,92
13	+		73	V	II/III	18	+		+	45	0,75
14	+		48	F	II/III	60	+		+	30	0,50
15		+	18	V	II	32	+	+		225	3,75
16	+		27	V	II/III	18	+	+		1 290	21,50
17	+		28	V	II/III	7	+			60	1,00
18		+	66	V	I/ II	8	+	+		90	1,50
19		+	63	V	II	8	+			30	0,50
20		+	24	V	II/III	3	+	+		1 170	19,50
21		+	70	V	I-III	3	+	+		120	2,00

Tabelle 2 Differenzierung der einzelnen Noxen

V = Verbrühung	Patient
kochendes Wasser	3 8 13 15 17 21
heiße Waschlauge	4 19
kochende Speisen	9 20
siedendes Fett, Öl	16 18
F = Flammeneinwirkung	
Benzin	2 5 6 7
Propangas	11
Pulversatz	12
Nitroverdünnung	14
H = Heiße Materialien	
flüssiges Metall	10
Bitumen	1

punkt des Unfalles bis zur Gewinnung des Untersuchungsmaterials verstrichene Zeit, war recht unterschiedlich. Bei 44% der Unfälle lag der Zeitfaktor unter 1 Stunde, bei 24% unter 2 Stunden; bei den restlichen Patienten schwankte er zwischen 2 und maximal 77 Stunden. Eine zusammenfassende Darstellung der aufgeführten Daten ist den Tabellen 1 und 2 zu entnehmen.

Für die Bestimmung der Normalwerte wurde die Epidermis von 4 Patienten untersucht, die zur Deckung eines Hautdefektes in Behandlung waren. Das für die Hauttransplantation notwendige Material wurde mit einem Dermatome jeweils vom linken Oberschenkel entnommen. Die Weiterverarbeitung der Hautstückchen für unsere Untersuchungen erfolgte in der gleichen Weise wie bei der Epidermis von Verbrennungskranken, ebenso die Methodik der Enzymaktivitätsbestimmungen. In diesen Fällen wurde ein histologischer Schnitt angefertigt, um zu kontrollieren, wie

stark, wenn überhaupt vorhanden, die Beteiligung des Coriums war. Der Grund für diese Maßnahme ist bereits im Abschnitt 2.4.2. dargelegt worden.

3.2. Extrakterstellung

Die durch Verbrennungen geschädigte Haut wurde 10 Minuten im Glas-homogenisator nach POTTER-ELVEHJEM (Firma Braun-Melsungen) in physiologischer Kochsalzlösung bei ständiger Kühlung im Eisbad (um Enzymaktivitätsverluste durch entstehende Homogenisationswärme zu verhindern) zerkleinert und das nun wäßrige Homogenat mindestens über 10 bis maximal 24 Stunden bei -10°C extrahiert und eingefroren. Diese Extraktionszeit hatte WEBER (36) in früheren Untersuchungen als bestmögliche ermittelt, insofern als die Enzymaktivität in Abhängigkeit von der Extraktionsdauer bis etwa zur 16. Stunde kontinuierlich anstieg, um bis zur 24. Stunde praktisch unverändert bestehen zu bleiben. Nach dem Auftauen erhielt man die für die Messung notwendige klare Extraktlösung durch Zentrifugation über 7-10 Minuten bei 3 500 Umdrehungen pro Minute. Die durch Punktion gewonnene Blasenflüssigkeit wurde in gleicher Weise zentrifugiert und dekantiert, um Zellreste gegebenenfalls abzutrennen, damit die Enzymaktivität durch die der Autolyse anheimfallenden Leukozyten nicht ansteigen konnte (42).

4. METHODIK

4.1. Abkürzungen und Enzymnomenklatur

A	Verbrennung 2. Grades (Blasendecke)
B	Blasenserum
C	Verbrennung 3. Grades (Exzision)
FDP	Fructose-1,6-diphosphat
GEW	Gesamteiweiß
M	molar
mM	millimolar
nm	Nanometer (= $m\mu$)
U	Einheit (unit)
mU	Millieinheit (milliunit)
^	und
v	oder

Hinweis zu der Nomenklatur der Enzyme:

Da sich eine einheitliche Enzymnomenklatur noch nicht durchgesetzt hat, erhalten die einzelnen Enzyme zur Charakterisierung die Dezimalklassifikation der "Commission on Enzymes of the International Union of Biochemistry" (18).

Neben der Abkürzung steht zuerst der empfohlene Trivialname, in Klammern die EC-Nummer und der systematische Name, darunter die noch oft gebräuchliche Bezeichnung.

ALD	Fructosediphosphataldolase (4. 1. 2. 13 Fructose-1,6-diphosphate D-glyceraldehyde-3-phosphate-lyase) auch: Aldolase, Zymohexase
-----	---

GDH	Glycerophosphatdehydrogenase (1. 1. 1. 8 L-Glycerol-3-phosphate: NAD oxidoreductase)
GOT	Aspartataminotransferase (2. 6. 1. 1 L-Aspartate: 2-oxoglutarate aminotransferase) auch: Glutamat-Oxalacetat-Transaminase
GPT	Alaninaminotransferase (2. 6. 1. 2 L-Alanine: 2-oxoglutarate aminotransferase) auch: Glutamat-Pyruvat-Transaminase
G-6-PDH	Glucose-6-phosphatdehydrogenase (1. 1. 1. 49 D-Glucose-6-phosphate: NADP oxidoreductase) auch: Zwischenferment, ZF
LDH	Lactatdehydrogenase (1. 1. 1. 27 L-Lactate: NAD oxidoreductase)
MDH	Malatdehydrogenase (1. 1. 1. 37 L-Malate: NAD oxidoreductase)
NAD	Nicotinamid-adenin-dinucleotid früher: Diphosphopyridinnucleotid, DPN genauer: NAD^+
NADH	reduziertes Nicotinamid-adenin-dinucleotid früher: reduz. Diphosphopyridinnucleotid, DPNH genauer: $\text{NADH} + \text{H}^+$
NADP	Nicotinamid-adenin-dinucleotidphosphat früher: Triphosphopyridinnucleotid, TPN genauer: NADH^+
NADPH	reduziertes Nicotinamid-adenin-dinucleotidphosphat früher: reduz. Triphosphopyridinnucleotid, TPNH genauer: $\text{NADPH} + \text{H}^+$
TIM	Triosephosphatisomerase (5. 3. 1. 1 D-Glyceraldehyde-3-phosphate ketol-isomerase)

4. 2. Allgemeines

Es wurde die Aktivität von 5 Enzymen untersucht, und zwar von ALD und LDH, zwei Enzymen aus der Glykolyse, von G-6-PDH, einem Enzym aus dem Pentosephosphatzyklus, und von GOT und GPT, zwei Enzymen aus dem Aminosäuremetabolismus. Die Aktivitätsbestimmungen

erfolgten mit dem optischen Test nach WARBURG durch Messung der Lichtabsorption der Pyridinnucleotide NADH und NADPH bei einer Wellenlänge von 366 nm mit dem Photometer "Eppendorf". Die Bestimmungsansätze, zusammengestellt unter Verwendung der Enzymtestkombinationen der Firma BOEHRINGER MANNHEIM, wurden in Küvetten aus optischem Spezialglas mit einer Schichtdicke von 1 cm gemessen.

4.3. Enzymeinheit

Die Vielzahl der Enzymeinheiten, die auch heute noch oft in Gebrauch sind, erschweren den Vergleich der von den verschiedenen Laboratorien – oft mit gleicher Methodik – erhaltenen Werte. Daher verwendeten wir als Maßeinheit die von der "Commission on Enzymes of the International Union of Biochemistry" (IUB) empfohlene "Internationale Einheit" (18). Der Hauptvorteil dieser Maßeinheit ist – neben ihrer weltweiten Vergleichbarkeit –, daß sie zur Bezeichnung aller enzymkatalysierten Reaktionen benutzt werden kann. 1 U (= 1 IU = 1 IE) bezeichnet die Enzymmenge, die unter Standardbedingungen den Umsatz von 1 μ mol Substrat pro Minute bewirkt (18). Standardbedingungen: 25°C (IUB-Empfehlungen 1961), wenn möglich optimaler pH-Wert und optimale Substratkonzentration. Der besseren Übersicht wegen und um Vergleiche mit früheren enzymatischen Arbeiten zu erleichtern, rechneten wir in mU (= 0,001 U).

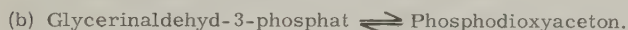
4.4. Enzymaktivitätsbestimmungen

4.4.1. Aldolase (ALD)

Das Enzym Aldolase katalysiert die Reaktion



Das Enzym Triosephosphatisomerase führt das entstandene Glycerinaldehyd-3-phosphat in Phosphodioxyaceton über:



Das Gleichgewicht der Reaktion (b) liegt vollständig auf der Seite des Phosphodioxyacetons und stellt sich bei einem Überschuß an Enzym spontan ein. In der von Glycerin-1-phosphatdehydrogenase katalysierten Reaktion wird das aus Fructose-1,6-diphosphat gebildete Phosphodioxyaceton mit NADH vollständig in Glycerin-1-phosphat übergeführt:



Die Gesamtreaktion lautet also:



Man bestimmt die Aktivität der Aldolase aus der Geschwindigkeit der durch Reaktion (c) beziehungsweise (d) hervorgerufenen NADH-Abnahme. Die im folgenden beschriebene Methode lehnt sich an die Angaben von BEISENHERZ et al. (1) an.

Testansatz: I 56 mM Collidinpuffer, pH = 7,4;
 0,3 mM Monojodacetat; 3 mM FDP
 II 20 mM NADH
 III 2 mg GDH/TIM/ml

Benötigt werden 2,50 ml des Lösungsgemisches I, man fügt von der Lösung II 0,05 ml und von der Lösung III 0,01 ml hinzu und versetzt das Ganze mit 0,20 ml des jeweiligen Untersuchungsmaterials. Nach kurzem Aufenthalt im Wasserbad bei 37°C wird bei einer Wellenlänge von 366 nm gegen einen Leerwert aus physiologischer Kochsalzlösung und der Untersuchungsflüssigkeit die Extinktion des Bestimmungssatzes gemessen.

Die wiederholte Extinktionsmessung erfolgt nach 20 Minuten, wobei das Reaktionsgemisch während dieser Zeit im Wasserbad bleibt. Näheres zur Berechnung der Enzymaktivitäten von ALD sowie der jetzt folgenden Enzyme ist dem Abschnitt 4.5. sowie dem Anhang Seite 51 (III) zu entnehmen.

4.4.2. Lactatdehydrogenase (LDH)

Das "oxydierende Gärungsferment" Warburgs katalysiert den letzten NADH-abhängigen Schritt der Glykolyse:



Das Reaktionsgleichgewicht liegt weit auf der Seite von Lactat und NAD. Man bestimmt die Aktivität der LDH aus der Geschwindigkeit der durch diese Reaktion hervorgerufenen NADH-Abnahme. Der Enzymnachweis wurde in Anlehnung an die von WRÓBLEWSKI und LADUE (51) angegebene Methode durchgeführt.

Testansatz: I 50 mM Phosphatpuffer, pH = 7,5;
 0,31 mM Pyruvat
 II 9 mM NADH

Der Reaktionsablauf erfolgt bei 25°C; man pipettiert zunächst 3,00 ml von Lösung I, dann 0,05 ml von Lösung II und zuletzt 0,10 ml der jeweiligen Untersuchungslösung in die Küvette. Unmittelbar nach Zugabe der Untersuchungsflüssigkeit wird in Abständen von je 1 Minute die dazu gehörige Extinktion abgelesen.

4.4.3. Glucose-6-phosphatdehydrogenase (G-6-PDH)

Das Enzym G-6-PDH katalysiert die wasserstoffübertragende Reaktion $\text{Glucose-6-phosphat} + \text{NADP} \rightleftharpoons \text{6-Phosphogluconat} + \text{NADPH}$, deren Gleichgewicht weit auf der Seite von 6-Phosphogluconat und NADPH liegt. Man bestimmt die Aktivität der G-6-PDH aus der Geschwindigkeit

der durch diese Reaktion hervorgerufenen NADPH-Zunahme. Der Enzymnachweis wurde in Anlehnung an die von KORNBERG und HORECKER (21) angegebene Methode durchgeführt.

Testansatz: I 50 mM Triäthanolaminpuffer, pH = 7, 6;
 5 mM Äthylendiamintetraacetat
 II 10 mM NADP
 III 31 mM Glucose-6-phosphat

In ein Reagenzglas werden miteinander von Lösung I 2,00 ml, von Lösung II 0,10 ml und von der zu untersuchenden Lösung 1,00 ml gemischt. Das Reaktionsgemisch verbleibt etwa 5 Minuten bei 25°C im Wasserbad. Danach wird von Lösung III 0,05 ml dazu gegeben, gießt in eine Küvette um und mißt anschließend in Abständen von je 1 Minute die dazu gehörige Extinktion.

4.4.4. Glutamat-Oxalacetat-Transaminase (GOT)

Das Enzym katalysiert die Gleichgewichtsreaktion

Glutamat + Oxalacetat $\rightleftharpoons$ Aspartat + α -Ketoglutarat.

Die Aktivität der GOT wird aus der Geschwindigkeit der durch diese Reaktion hervorgerufenen Oxalacetat-Zunahme bestimmt. Diese wird in der gekoppelten, durch Malatdehydrogenase katalysierten Indikatorreaktion bestimmt und durch die NADH-Abnahme angezeigt:

Oxalacetat + NADH $\rightleftharpoons$ Malat + NAD.

Die Durchführung des Enzymnachweises lehnte sich an die Angaben von KARMEN (19) an.

Testansatz: I 100 mM Phosphatpuffer, pH = 7, 4;
 40 mM L-Aspartat
 II 12 mM NADH
 III 0,25 mg MDH/ml ; 0,25 mg LDH/ml
 IV 250 mM α -Ketoglutarat

Zunächst wird von der Lösung I 3,00 ml, von der Lösung II 0,05 ml, von der Lösung III 0,05 ml und von der zu untersuchenden Flüssigkeit

0,50 ml in ein Reagenzglas pipettiert und das Gemisch über 5 Minuten bei 25°C im Wasserbad stehengelassen. Anschließend versetzt man das Ganze mit 0,10 ml aus der Lösung IV, gießt in eine Küvette um und mißt sofort in Abständen von je 1 Minute die dazu gehörige Extinktion.

4.4.5. Glutamat-Pyruvat-Transaminase (GPT)

Das Enzym katalysiert die Gleichgewichtsreaktion

Glutamat + Pyruvat $\rightleftharpoons$ Alanin + α -Ketoglutarat.

Die Aktivität der GPT wird aus der Geschwindigkeit der durch diese Reaktion hervorgerufenen Pyruvat-Zunahme bestimmt. Diese wird in der gekoppelten, durch Lactatdehydrogenase katalysierten Indikatorreaktion angezeigt und durch die NADH-Abnahme im UV-Licht sichtbar gemacht: Pyruvat + NADH $\rightleftharpoons$ Lactat + NAD.

Die im folgenden beschriebene Methode lehnt sich an die Angaben von WRÓBLEWSKI und LADUE (52) an.

Testansatz:	I	100 mM Phosphatpuffer, pH = 7,4; 80 mM DL-Alanin
	II	12 mM NADH
	III	0,25 mg LDH/ml
	IV	250 mM α -Ketoglutarat

Von der Lösung I pipettiert man 3,00 ml, von der Lösung II 0,05 ml, von der Lösung III 0,05 ml und von dem zu untersuchenden Material 0,50 ml in ein Reagenzglas, läßt das Gemisch über 5 Minuten bei 25°C im Wasserbad stehen und versetzt es danach mit 0,10 ml aus der Lösung IV und gießt das Ganze in eine Küvette um. Anschließend mißt man in Abständen von je 1 Minute die jeweilige Extinktion.

4.5. Bezugsgröße

Die Berechnung der einzelnen Enzymaktivitäten ist der Arbeitsvorschrift der Firma BOEHRINGER MANNHEIM zu entnehmen. Die dort berechneten Enzymeinheiten sind auf 1 ml Körperflüssigkeit bezogen, da man mit den Testkombinationen routinemäßig nur die Aktivitäten im Serum bestimmt. Somit lautet bei der Bezugsgröße "1 ml Körperflüssigkeit" die Definition der Einheit $1 \frac{U}{ml} = \frac{1 \mu\text{mol Substratumsatz}}{1 \text{ min} \cdot 1 \text{ ml}}$, wo-

bei 1 mU = 0,001 U. Da für diese Untersuchungen eine solche Bezugsgröße wie auch der Bezug auf "Gramm Frischgewicht" (28, 30) oder "Gramm Trockengewicht" aus dargelegten Gründen (Abschnitt 2.4.1.) ungeeignet war, wurde für die vorliegende Arbeit der Gesamtstickstoffgehalt (Gesamt-N) der Extraktionslösung beziehungsweise des Blasen-serums als Bezugsgröße gewählt. Dieses Vorgehen hatte sich bereits anderweitig bei vergleichenden enzymchemischen Untersuchungen bewährt (43). Die dazu notwendige Proteinbestimmung erfolgte mit der Biuret-Methode nach WEICHSELBAUM (47). Daneben wurde bei jeder Gesamteiweißbestimmung das Biuretreagens mit Lab-trol^R kontrolliert. Die Definition der Enzymeinheit bei der Bezugsgröße "10 mg Gesamtstickstoff" lautet dann:

$$1 \frac{U}{10 \text{ mg Gesamt-N}} = \frac{1 \mu\text{mol Substratumsatz}}{1 \text{ min} \cdot 10 \text{ mg Gesamt-N}}$$

Die Umrechnung von "mU/ml" in "mU/10 mg Gesamt-N" gewährleistet der leicht zu berechnende Faktor $F_N = 6,25/\text{GEW}$.

$$\text{Somit ist also } 1 \frac{U}{10 \text{ mg Gesamt-N}} = 1 \frac{\text{mU}}{\text{ml}} \cdot \frac{6,25}{\text{GEW}}$$

Ergänzendes ist dem Anhang Seite 50 und 51 zu entnehmen.

5. UNTERSUCHUNGSERGEBNISSE UND BESPRECHUNG

Wenn in der nachfolgenden Wiedergabe der Meßwerte die Enzymaktivitäten aufgeführt werden, so finden sich diese wie ausgeführt (Abschnitt 4.5.) im Epidermishomogenat und im Hautblasenserum auf "10 mg Gesamtstickstoff" berechnet. Was die Aktivitäten der Enzyme des Epidermishomogenates betrifft, so können wir annehmen, daß die hier gefundenen Werte niedriger liegen als sie in vivo in der Epidermis anzutreffen sind. Dies ergibt sich aus der Überlegung, daß selbst bei gründlicher und langandauernder Homogenisation der Epidermis und der daran anschließenden Extraktion (Abschnitt 3.2.) die betreffenden Enzyme nicht vollständig aus der homogenisierten Epidermis in die Extraktionsflüssigkeit diffundieren (43).

5.1. Ergebnis der Untersuchung an normaler Epidermis

Aus Gründen der Hautlappengewinnung (siehe Abschnitt 2.4.2. und 3.1.) konnte nur in einem Fall (Patient 22) coriumfreie Epidermis untersucht werden. In den restlichen Fällen (Patienten 23 mit 25) ließ die histologische Begutachtung der Hautstückchen einen mehr oder weniger großen Coriumanteil erkennen. Ist eine Verfälschung der gemessenen Enzymaktivitäten in normaler Haut (Tabelle 3) in dem Ausmaß zu erwarten, wie sie HERSHEY und Mitarb. (14) in ihrer Arbeit andeuteten?

Vergleicht man in Tabelle 3 die Relation Epidermis zu Corium mit den gemessenen Aktivitäten im gesamten Hauttransplantat, so zeigt sich wohl unabhängig vom wechselnden Coriumanteil eine breite Streuung der Meßwerte. Tabelle 4, in der die im Transplantat des Patienten 22 (Relation Epidermis:Corium = 1:0) gefundenen Enzymaktivitäten absolut gleich 1 Einheit gesetzt wurden, stellt die starke Streubreite noch deut-

Tabelle 3 Enzymaktivitäten in normaler Epidermis
(Aktivitätseinheit: mU/10 mg Gesamt-N)

Angabe des Verhältnisses Epidermis zu
Corium (Epi:Cor) entsprechend der histo-
logischen Schnitte

Patient	22	23	24	25
ALD	121, 19	50, 80	123, 75	877, 94
LDH	30 365, 75	29 833, 25	4 638, 99	19 998, 46
G-6-PDH	193, 24	172, 12	421, 02	1 506, 13
GOT	4 305, 84	2 108, 23	2 679, 10	7 329, 28
GPT	485, 62	251, 19	484, 62	1 319, 27
Epi:Cor	1:0	1:7	1:4	1:1

Tabelle 4 Enzymaktivitäten des Haut-
transplantates (Patient 22)
gleich 1 Einheit gesetzt

Patient	22	25	24	23
ALD	1	0, 41	1, 02	7, 25
LDH	1	0, 98	0, 15	0, 66
G-6-PDH	1	0, 89	2, 18	7, 80
GOT	1	0, 38	0, 62	1, 70
GPT	1	0, 52	0, 99	2, 72
Epi: Cor	1:0	1:1	1:4	1:7

licher heraus. Nun könnte man aus Tabelle 4 besonders für ALD, G-6-PDH, GOT und GPT folgenden Schluß ziehen: Zunächst geht der geringere Coriumanteil 1:1 mit einer Verminderung der Gesamtenzymaktivität des Hautlappens (<1) einher; ein vermehrter Coriumanteil wie 1:4 oder 1:7 läßt die Gesamtaktivität (teilweise >1) wieder ansteigen. Verständlich

Tabelle 5 Vergleich zwischen den Enzym-
aktivitäten, wobei die der G-6-
PDH gleich 1 gesetzt wurde.

- (a) Verhältnis der Mittelwerte bei normaler
Epidermis (siehe Tabelle 14, Seite 42)
(b) Verhältnis der Mittelwerte der Aktivitäten
der Epidermis bei Jugendlichen und Er-
wachsenen mittleren Alters.
Aus: SALFELD (30), Tabelle 1, Seite 88

	ALD	LDH	G-6-PDH	GOT	GPT
(a)	0,5	36,3	1	7,0	1,1
(b)	3,7	160,0	1	15,6	4,1

wäre dies bei der Annahme, daß in den tiefer gelegenen Schichten des Coriums und eventuell auf Grund deren heterogenen Zusammensetzung (Haarfollikel, Talgdrüsen) die aufgeführten Enzymsysteme anscheinend aktiver werden. Diese Interpretation der Werte läßt sich nicht halten, da durch Untersuchungen von HERSHEY et al. (14, 15), WEBER und KORTING (46) und RASSNER (27) die relative Enzymarmut der Cutis gegenüber der Epidermis belegt wurde (siehe Abschnitt 2.4.2.). Es muß daher angenommen werden, daß topische und individuelle Faktoren hierfür bedeutsam sind. Außerdem liefert das histologische Präparat nur einen Teilausschnitt des Hautstückchens. Für das gesamte Hautläppchen kann daher der histologische Schnitt nicht als repräsentativ angesehen werden.

Wegen der Diskrepanz in der Methodik lassen die gefundenen Meßwerte (Tabelle 3) keinen direkten Vergleich mit bereits veröffentlichten Ergebnissen zu (Abschnitt 2.4.1.). Nur die Verhältnisse der Enzyme untereinander, somit das Enzymmuster, können mit denen anderer Autoren dis-

kutiert werden.

Die zum Beispiel von SALFELD gefundenen Normalwerte der einzelnen Enzyme in der Epidermis bei Jugendlichen und Erwachsenen mittleren Alters (30), die wegen einer anderen Bezugsgröße mit den eigenen Werten nicht zu integrieren sind, zeigen folgendes: Beim Vergleich der Aktivitäten im Durchschnitt rangieren die der LDH weit an erster Stelle, dann folgen die der Enzyme des Aminosäurestoffwechsels GOT und GPT und in einigem Abstand die der ALD und der G-6-PDH (Tabelle 5, (b)). Die Beziehung der von uns gefundenen Meßdaten der 5 Enzyme untereinander stimmt mit dieser Aufstellung quantitativ nicht ganz überein (Tabelle 5, (a)). Wesentlich ist aber auch hier, daß die Aktivität an LDH an der Spitze steht; abweichend ist die niedrigere ALD-Aktivität.

Es zeigt sich somit in Übereinstimmung mit SALFELD (30) eindeutig, daß die Epidermis als synthetisierendes Gewebe zwar einen hohen Energiebedarf hat, jedoch vorwiegend auf Energiegewinnung durch die Glykolyse (Milchsäurebildung) angewiesen ist. Die Enzyme des Aminosäuremetabolismus und die am Pentosphosphatzyklus direkt oder indirekt beteiligten Enzyme sind in ihrer Aktivität gering (Abschnitt 2.2.).

5.2. Ergebnis der Untersuchung an zweit- und drittgradig verbrannter Epidermis

5.2.1. Ergebnisse allgemeiner Art

Bei zunächst allgemeiner Betrachtung der aus den Tabellen 6 mit 10 ersichtlichen Meßdaten läßt sich überraschender Weise feststellen, daß die nachzuweisenden Enzyme (Abschnitt 4.2.) auch in der thermisch alterierten Epidermis tatsächlich aufzufinden sind. Dieses Ergebnis besitzt um so größere Bedeutung, als sich hieraus nicht nur erneut der Beweis für

Tabelle 6 Enzymaktivitäten
der ALD

Pat.	A	B	C
1	76,50		70,43
2	19,28	0,37	
3			
4	151,08		
5	42,37	19,31	
6	46,21		
7	28,69	0,22	
8	69,96	7,13	
9	104,73		
10	33,65	16,00	
11	12,57		
12	286,66	9,52	20,97
13	175,52		4,44
14	81,53		0,00
15	35,32	146,65	
16	22,55		
17	53,00		
18	5,75	6,96	
19	82,30		
20	45,72	10,11	
21	133,56	272,26	

Tabelle 7 Enzymaktivitäten
der LDH

Pat.	A	B	C
1	1 450,00		373,00
2	10 168,50	5 558,20	
3	7 573,13		
4	20 300,00	7 364,96	
5	27 902,04	4 061,63	
6	22 661,09		
7	6 844,16	19 197,05	
8	733,47	228,21	
9	12 737,79		
10	108,72	6 160,90	
11	2 254,18		
12	19 961,60	2 230,21	1 197,80
13	17 961,55		1 971,12
14	19 421,64		0,00
15	7 393,71	6 910,19	
16	6 875,69	9 578,56	
17	17 013,80		
18	1 168,92	409,70	
19	23 263,80		
20	4 310,49	375,43	
21	16 664,75	9 977,66	

die Existenz bestimmter Enzymsysteme im Blasenserum (siehe Abschnitt 2.2. und 2.3.) ergibt, sondern daß vielmehr die allgemein als gültig angesehene Tatsache – Enzyme seien gegen jegliche Art der Alteration, besonders aber thermischer Art, äußerst empfindlich – in Frage gestellt wird. Es war demzufolge primär nicht zu erwarten, daß in der durch verschiedene Hitzegrade geschädigten Epidermis Enzyme aufzufinden sind,

Anmerkung zu den Tabellen 6 mit 10:

Hierbei handelt es sich um eine Wiedergabe der Enzymaktivitäten in verbrannter Epidermis und in der entsprechenden Blasenflüssigkeit, alle Werte angegeben in "mU/10 mg Gesamt-N".

Tabelle 8 Enzymaktivitäten
der G-6-PDH

Pat.	A	B	C
1	0,00		
2	6,37	6,01	
3	104,29		
4	6,64	0,00	
5	3,55	1,33	
6	62,58	45,66	
7	10,02	160,53	
8	69,62	3,32	
9	0,00		
10	0,00	28,68	
11	0,00		
12	119,23		2,59
13	55,78		
14	156,70		0,00
15	9,01	3,13	
16	55,50		
17	83,69		
18	0,00	0,25	
19	125,96		
20	107,76	1,37	
21	79,99	24,07	

Tabelle 9 Enzymaktivitäten
der GOT

Pat.	A	B	C
1	470,13		131,00
2	1 857,84	338,26	
3	545,13		
4	5 597,70	499,35	
5	328,34	35,28	
6	3 464,24		
7	1 150,68	1 257,23	
8	383,34	27,02	
9	3 275,58		
10	59,30	321,82	
11	436,18		
12	522,05	254,78	351,19
13	2 753,27		593,33
14	2 588,32		0,00
15	2 887,45	410,01	
16	787,67		
17	2 243,41		
18	213,70	32,03	
19	2 884,22		
20	602,74	43,51	
21	2 423,46	366,91	

zumal in dieser beträchtlichen Aktivität. Die angeschnittene Problematik mit der Frage nach der Thermolabilität der Fermente und enzymatischen Mechanismen wird im Abschnitt 5.2.2. weiter diskutiert werden.

Im Einzelnen fällt bei der Analyse der Zahlenwerte (repräsentativ für die entsprechenden Enzymaktivitäten) der jeweiligen Spalte (A, B oder C, vertretend den Grad der Verbrennung) der Tabellen 6 mit 10 die Spannweite der Aktivitätsskala auf, in der sie sich bewegen. So zum Beispiel reichen bei Verbrennungen 2. Grades die ALD-Aktivitäten von 5,75 mU bis 286,66 mU (Tabelle 6, Spalte A), die LDH-Aktivitäten von (Tabelle 7,

Tabelle 10Enzymaktivitäten
der GPT

Pat.	A	B	C
1	108,78		
2	315,92	46,86	
3	69,89		
4	488,10	118,09	
5	236,27	12,17	
6	1 080,37		
7	352,34	93,40	
8	29,87	4,76	
9	419,33		
10	44,63	51,44	
11	130,92		
12	709,41	32,53	23,41
13	391,63		
14	621,20		0,00
15	334,52	85,53	
16	372,48		
17	737,74		
18	69,55	7,57	
19	454,46		
20	81,66	11,27	
21	562,87	70,33	

Spalte A) 108,72 mU⁺) bis 27 902,04 mU. Die niedrigste gemessene Aktivität im Blasenserum liegt zum Beispiel für GOT bei 27,02 mU, für GPT bei 4,76 mU, die höchste gemessene Aktivität bewegt sich für GOT um 1 257 mU, für GPT um 118 mU (Tabelle 9 und 10, Spalte B). Diese Beispiele zeigen, daß ein so weit gespanntes Aktivitätsspektrum (am besten verdeutlicht in Abbildung 1, Seite 35) klare Zusammenhänge nicht ohne weiteres erkennen läßt. Daher wurde zunächst untersucht, inwieweit sich eine direkte Beziehung zwischen den gefundenen Aktivitäten und

⁺) Im weiteren Text steht als Benennung der Aktivitäten "mU" stellvertretend für "mU/10 mg Gesamt-N".

den folgenden Größen (siehe Tabelle 1, Seite 15) aufstellen läßt:

- Geschlecht und Alter der Verbrennungskranken (Spalte b, c, d);
- lokale Vorbehandlung der verbrannten Bezirke;
- Ort der Entnahme von Blasendecke, Blasenserum und Exzision;
- Zeitfaktor (Spalte l, m);
- Noxe (Spalte e; Tabelle 2, Seite 16);
- Ausdehnung der Verbrennung (Spalte g);
- Grad der Verbrennung (Spalte f).

Im untersuchten Kollektiv von 21 Verbrennungskranken ließ sich anfangs keine Beziehung der Enzymaktivitäten mit den obengenannten Größen, besonders den 5 ersten, aufstellen. Die berechneten Korrelationswerte, hauptsächlich der letzten 2 Größen in Beziehung gesetzt mit den Aktivitäten, die sich zwischen -0,22 und 0,46 bewegten, waren für eine weitere Auswertung demnach unbrauchbar. Mit anderen Worten: Nicht einer der in Abbildung 1 (Seite 35) dargestellten Meßwerte ist mit einem Kennzeichen behaftet, das eindeutig auf eine Beziehung zu einer der angeführten Größen schließen läßt. Keiner der Einzelwerte besitzt eine spezielle Aussagekraft, er läßt auch nicht den Schluß auf die Art des untersuchten Materials (Epidermis oder Blasenserum) und den Grad der thermischen Schädigung zu.

Steht damit der Einzelwert zunächst zusammenhanglos im Raum, so ändert sich seine Aussagekraft entschieden in Verbindung mit anderen Einzelergebnissen beim gleichen Patienten, der nebeneinander verschiedene Verbrennungsgrade aufzuweisen hat. Als Beispiel mögen die bei den Patienten 1, 12, 13 und 14 gefundenen Enzymaktivitäten dienen. Davon konnten bei Patient 12 tatsächlich drei Zustände einer Verbrennung – Blasendecke (A), Blasenserum (B) und drittgradig verbrannte Epidermis (C) – untersucht werden (Tabelle 1, Seite 15). Bei Gegenüberstellung der gemessenen Werte von zweitgradig verbrannter Epidermis mit denen in der Hautexzision gefundenen wird für jedes einzelne Enzym ein deutlicher

Aktivitätsabfall sichtbar.

So zum Beispiel beträgt die ALD - Aktivität (Tabelle 6, Seite 30) bei Patient 1 76,50 mU bei A im Gegensatz zu 70,43 mU bei C, bei Patient 12 286,66 mU bei A im Gegensatz zu 20,97 mU bei C, bei Patient 13 175,52 mU bei A im Gegensatz zu 4,44 mU bei C und bei Patient 14 bei A 81,53 mU im Gegensatz zu keiner Aktivität bei C.

LDH (Tabelle 7, Seite 30) zeigt ein ähnliches Verhalten, nur liegen hier die Aktivitäten um ein vielfaches höher. Patient 1 bietet bei A 1450,00 mU gegenüber 373,00 mU bei C, Patient 12 19961,60 mU bei A gegenüber 1197,80 mU bei C, Patient 13 17961,55 mU bei A gegenüber 1971,12 mU bei C und Patient 14 bietet 19421,64 mU bei A gegenüber keiner nachzuweisenden Aktivität bei C.

Die niedrigsten Werte wurden bei der Bestimmung von G - 6 - PDH (Tabelle 8, Seite 31) gemessen. A ergab bei Patient 12 und 14 je eine Aktivität von 119,23 mU beziehungsweise 156,70 mU, während die Aktivität von B 2,59 mU beziehungsweise 0,00 mU betrug.

Die Bestimmung von GOT und GPT ergab insgesamt wieder höhere Werte, sie bewegten sich aber noch unterhalb der Meßwerte der LDH. Die im Untersuchungsgut von den Patienten 1, 12, 13 und 14 gemessenen GOT - Aktivitäten (Tabelle 9, Seite 31) erreichten bei A Werte von 470,13 mU, 522,05 mU, 2753,27 mU beziehungsweise 2588,32 mU; dagegen ergaben sich bei C Aktivitäten von 131,00 mU, 351,19 mU, 593,33 mU beziehungsweise 0,00 mU.

709,41 mU beziehungsweise 621,20 mU entsprach der GPT - Aktivität (Tabelle 10, Seite 32) bei A, 23,41 mU beziehungsweise 0,00 mU bei C, wie die Enzymaktivitätsmessung bei Patient 12 und 14 ergab.

Die an den obigen Beispielen demonstrierten Aktivitätsverluste bei Verbrennungen 3. Grades (C) gegenüber den in der Blasendecke (A) aufgefundenen Enzymaktivitätswerten müssen wohl in erster Linie als Folge

Abbildung 1 Auftragung der in Tabelle 6 mit 10 ersichtlichen Meßwerte (Seite 30 bis 32) nach Enzym und Grad der Verbrennung

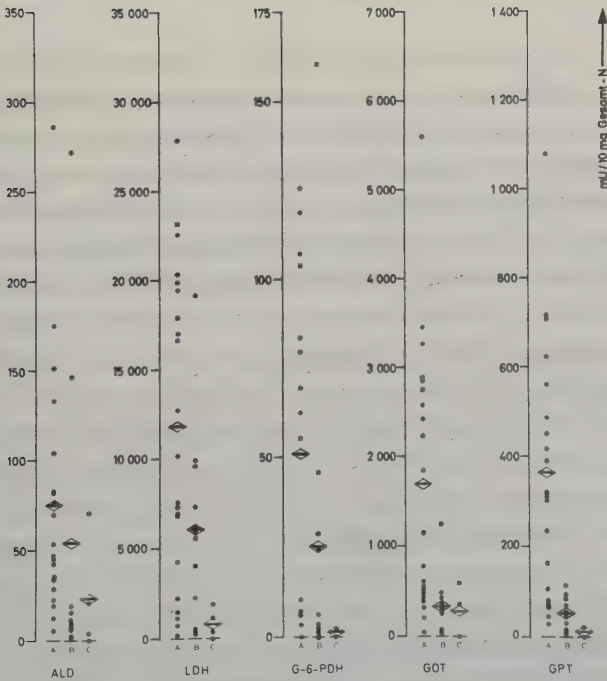
Aktivitätseinheit mU/10 mg Gesamt-N

A Verbrennung 2. Grades

B Blasenserum

C Verbrennung 3. Grades

◊ arithmetischer Mittelwert



der stärkeren oder längeren Hitzeeinwirkung auf die Haut angesehen werden. Das morphologische Substrat dieser schweren thermischen Alteration ist die Koagulationsnekrose der Epidermis und der darunter gelegenen Schichten, entsprechend der Tiefenwirkung der einwirkenden Noxe. Das Enzym schlechthin muß auf Grund seiner Eiweißnatur mindestens eine Aktivitätsminderung wenn nicht sogar einen totalen Aktivitätsverlust erfahren, da seine Eiweißstruktur der Gefahr einer Zersetzung durch Hitze ausgesetzt ist. Darum ist es erstaunlich, daß trotz der Denaturierung des Enzyms, die *in vitro* schon bei 50°C beträchtlich ist, Aktivitäten überhaupt noch nachzuweisen sind.

Die bei Patient 12 ermittelten Enzymaktivitäten im Blasenserum (B) liegen etwa in Höhe der Werte, die in drittgradig verbrannter Epidermis gefunden wurden. Die Bestimmung der ALD (Tabelle 6, Seite 30) ergab eine Aktivität von 9,52 mU ((A) 286,66 mU; (C) 20,97 mU), der LDH (Tabelle 7, Seite 30) eine Aktivität von 2 230,21 mU ((A) 19 961,60 mU; (C) 1 197,80 mU), der GOT (Tabelle 9, Seite 31) eine Aktivität von 254,78 mU ((A) 522,05 mU; (C) 351,19 mU) und schließlich der GPT (Tabelle 10, Seite 32) eine Aktivität von 32,53 mU ((A) 709,41 mU; (C) 23,41 mU). Entsprechend den Ausführungen in Abschnitt 2.2. und 2.3. war im Blasenserum eine Enzymaktivität zu erwarten, die unterhalb der der Epidermis, auch der geschädigten, liegen muß. Neben der Diffusion der in ihrer Struktur veränderten Enzyme aus der geschädigten Epidermis in den Blasenraum (Abschnitt 2.3., Seite 10) muß als zusätzlicher Faktor auch der vermehrte Flüssigkeitstransport durch die Kapillarwandungen in das Gewebe berücksichtigt werden. Wenn auch die Normalwerte der entsprechenden Enzyme im Serum niedrig liegen, so darf dieses Moment, hervorgerufen durch exzessive Hyperämie und Ansammlung intermediärer Stoffwechselprodukte, nicht ganz außer Acht gelassen werden.

Tabelle 11

Mittelwerte der den Tabellen 6 mit 10 (Seite 30 bis 32) zu entnehmenden Enzymaktivitäten, angegeben in "mU/10 mg Gesamt-N".

Enzym	A	B	C
ALD	75, 35	54, 24	23, 96
LDH	11 750, 91	6 004, 39	885, 48
G-6-PDH	50, 32	24, 94	1, 30
GOT	1 689, 27	326, 02	268, 88
GPT	362, 43	48, 54	11, 71

Einen summarischen Eindruck dieser und der restlichen Einzelbeobachtungen bietet die graphische Auftragung der Meßwerte, wie sie sich in Abbildung 1 (Seite 35) darstellt. Hierbei zeigt sich noch deutlicher, daß die durchschnittliche Aktivität der Enzyme des Epidermishomogenates (A) zumeist höher liegt als der Enzyme der Blasenflüssigkeit (B); die Enzymaktivität des Homogenates von drittgradig verbrannter Haut liegt am niedrigsten (C).

Auch die Berechnung des arithmetischen Mittels der Meßreihen A, B und C aller Enzyme bestätigt diesen Eindruck. Die exakten Werte, in Abbildung 1 mit  gekennzeichnet, sind der Tabelle 11 zu entnehmen. Die alleinige Angabe des Mittelwertes ist unzureichend, sofern nicht zusätzlich die Standardabweichung s (= Streubreite des Einzelwertes) mit angegeben wird. Für unsere Untersuchungen wurde die graphische Darstellung des Mittelwertes einer mathematischen vorgezogen. Von Nachteil ist dabei allerdings die geringere Aussagekraft der Meßdaten gegenüber einer Signifikanzrechnung. Dennoch läßt sich bei dieser Art der Mittelwertdarstellung klar die Tendenz der Werte aufzeigen, nämlich der ständige Abfall der Enzymaktivitäten der 5 untersuchten Fermente von den A-Meßreihen zu den B-Meßreihen; die Aktivitäten der C-Meß-

reihen liegen insgesamt überall am niedrigsten.

Zunächst lassen sich nur über die Verbrennungen 3. Grades genauere Aussagen formulieren. Wie bereits in der Besprechung der aufgeführten Beispiele (Seite 34) angeschnitten wurde, können die Enzymaktivitäten ab einem gewissen Grad der thermischen Alteration in wesentlich geringerem Ausmaß erfaßt werden. Die Werte bei drittgradig verbrannter Epidermis in Vergleich gesetzt mit den in der Blasendecke gefundenen Meßdaten lassen dies mit einiger Sicherheit erkennen. Verwunderlich ist immer wieder, daß in drei von vier Fällen (Patienten 1, 12, 13) trotz der Einwirkung extrem heißer Substanzen wie Bitumen oder ein sich entzündender Pulversatz (Tabelle 2, Seite 16) noch relativ hohe Enzymaktivitäten nachzuweisen waren. Nur Patient 14, der mit einer explodierenden Nitroverdünnung in Berührung gekommen war, ließ in dem exzidierten Hautstück keinerlei Aktivität mehr erkennen, obwohl das Gesamteiweiß der untersuchten Extraktlösung 0,17 g% (Gesamteiweiß bei Patient 1 0,11 g%, bei Patient 12 0,18 g%, bei Patient 13 0,18 g%) betrug. In diesem Fall muß die Denaturierung des hochmolekularen Eiweißanteils des Fermentes, das Apoenzym, zusammen mit der Zerstörung des Aktivitätszentrums des Enzyms vollständig gewesen sein. Wie die übrigen Beispiele aber zeigen, scheint die thermische Schädigung der Epidermis nicht ohne weiteres zur Zerstörung "intravitaler", das heißt innerhalb des Hautorgans vorhandener Enzyme zu führen. Sollte dies abhängen von der zeitlichen Einwirkung des thermischen Schadens und der Geschwindigkeit seiner Einwirkung auf das Hautorgan?

Mit gewissem Vorbehalt sei auf die statistische Berechnung (Tabelle 12, Seite 39) der in Tabelle 6 mit 10 eingetragenen Meßdaten hingewiesen. Die Unterschiedlichkeit der Faktoren, die die Bildung eines einheitlichen Kollektivs kaum möglich machte, berechtigt den Einwand (Abschnitt 5.2.3.). Trotzdem erscheint es notwendig Tabelle 12 anzuführen, da sie

Tabelle 12 Statistische Berechnung der in den Tabellen 6 mit 10 eingetragenen Werte (Seite 30 bis 32).

Ergänzendes zur Berechnung dieser Werte ist der Anmerkung II Seite 50 zu entnehmen.

n Anzahl der Untersuchungen

Enzym	$\bar{x}$	$+ s$	$+ s_s$	$+ 3 s_s$	n	
ALD	75,35	68,19	15,25	45,75	20	A
	54,24	93,59	31,20	93,60	10	B
	23,96	32,27	16,13	48,39	4	C
LDH	11 750,91	8 690,56	1 896,43	5 689,29	21	A
	6 004,39	5 392,52	1 556,70	4 670,10	12	B
	885,48	879,94	439,97	1 319,91	4	C
G-6-PDH	50,32	51,28	11,19	33,57	21	A
	24,94	47,41	14,29	42,87	11	B
	1,30	1,83	1,30	3,90	2	C
GOT	1 689,27	1 466,70	320,06	960,18	21	A
	326,02	353,74	106,66	319,98	11	B
	268,88	260,35	130,18	390,54	4	C
GPT	362,47	274,86	59,98	179,94	21	A
	48,54	39,07	11,78	35,34	11	B
	11,71	16,55	11,71	35,13	2	C

die auf Seite 37 dargelegten Ergebnisse untermauert. Die Mittelwerte der Meßreihen A ($\bar{x}_A$) und C ($\bar{x}_C$) zeigen nämlich nicht nur eine fallende Tendenz (Abbildung 1), sondern sind sogar voneinander signifikant verschieden. Mit anderen Worten: Die Differenz der jeweiligen Mittelwerte der Meßreihe A und C ($\bar{x}_A - \bar{x}_C$) ist stets größer als das Dreifache des mittleren Fehlers der beiden Mittelwerte ($3 s_{sA}$ und $3 s_{sC}$), womit die Voraussetzung für zwei signifikant verschiedene Meßreihen erfüllt ist. So gilt zum Beispiel für LDH :

$$\bar{x}_A = 11\,750,91 \text{ mU}; \quad \bar{x}_C = 885,48 \text{ mU};$$

$$\text{Differenz: } \bar{x}_A - \bar{x}_C = 10\,865,43 \text{ mU};$$

$$3s_{sA} = 5\,689,29 \text{ mU}; 3s_{sC} = 1\,319,91 \text{ mU};$$

Es folgt: $10\,865,43 \text{ mU} > 5\,689,29 \text{ mU} \wedge 1\,319,91 \text{ mU}$.

Diese Befunde lassen den Schluß zu, daß der morphologische Aspekt einer drittgradigen Verbrennung mit dem Ergebnis der enzymatischen Untersuchung konform geht. Zusammenfassend läßt sich sagen: Die einzelne Messung der Enzymaktivitäten bei einer Verbrennung zweiten oder dritten Grades ergibt außer dem jeweiligen Enzymnachweis zunächst keine verbindliche Aussage; nur der bei demselben Patienten getroffene Vergleich zwischen den Aktivitäten bei drittgradig und zweitgradig verbrannter Epidermis läßt einen signifikanten Unterschied offenbar werden.

Die Enzymaktivitäten in der durch das Blasenserum vom Corium abgetrennten Epidermis (= Blasendecke) erreichen wie schon angedeutet erstaunlich hohe Werte (Tabelle 11, Seite 37; Abbildung 1, Seite 35). Obwohl keine direkte Abhängigkeit zwischen den Aktivitätswerten und dem Zeitfaktor (Tabelle 1; Spalte 1, m; Seite 15) nachzuweisen ist (Seite 33), kann man doch erwarten, daß in der gegebenen Zeitspanne von Verbrennung und Entnahme des Untersuchungsgutes noch Stoffwechselprozesse ablaufen, die sich in diesen relativ hohen Enzymaktivitäten äußern.

Wie außerdem zu erwarten war, zeigt die Epidermis unter pathologischen Bedingungen das gleiche Enzymmuster wie unter normalen Umständen (Tabelle 5, Seite 28). Wenn auch Diskrepanzen quantitativer Art bestehen, so ist aus Tabelle 13 abzulesen, daß auch die thermisch geschädigte Epidermis in Bezug auf die LDH die höchste Aktivität aufzuweisen hat. Dies ist wiederum als Zeichen der ausgeprägten Glykolyse – auch in der geschädigten Epidermis – zu werten. Weitere Einzelheiten können erst im Zusammenhang mit den Normalwerten im folgenden Abschnitt 5.2.2. erörtert werden.

Zu den Enzymaktivitäten der Flüssigkeit in den Verbrennungsblasen sei folgendes kurz bemerkt: Die Mittelwerte liegen nach Abbildung 1 zwi-

Tabelle 13 Vergleich zwischen den Enzymaktivitäten, wobei die der G-6-PDH gleich 1 gesetzt wurde.

- (a) Verhältnis der Mittelwerte bei normaler Epidermis (siehe Tabelle 14, Seite 42)
 (c) Verhältnis der Mittelwerte bei Verbrennung 2. Grades (Tabelle 11, A; Seite 37)
 (d) Verhältnis der Mittelwerte bei Verbrennung 3. Grades (Tabelle 11, C; Seite 37)

	ALD	LDH	G-6-PDH	GOT	GPT
(a)	0,5	36,3	1	7,0	1,1
(c)	1,5	236,0	1	33,6	7,2
(d)	2,2	240,0	1	13,0	1,9

schen denen der Reihe A und C, sind aber voneinander nur teilweise signifikant verschieden, wie aus der Tabelle 12 (Seite 39) zu entnehmen ist (zutreffend nur für LDH und GPT). Die Untersuchung bei Verbrennungskranken zeigt uns dasselbe Phänomen, auf das in Abschnitt 2.2. und 2.3. bereits eingegangen wurde. Das Konzentrationsgefälle, welches von der Epidermis ausgehend über das Blasenserum in Richtung Blutserum verläuft – wie es WEBER und THEISEN (43) am Beispiel des Pemphigus mit subepidermaler Blasenbildung nachgewiesen hatten – besteht auch bei der durch Hitzeeinwirkung (Verbrennung 2. Grades) geschädigten Epidermis. Die im Abschnitt 2.3. ausgeführten theoretischen Überlegungen zum Mechanismus der Blasenentstehung durch Verbrennungen erfahren dadurch ihre experimentelle Bestätigung.

5.2.2. Vergleich der Ergebnisse mit den Enzymaktivitäten in normaler Epidermis

Während die Aktivitäten der in drittgradig verbrannten Hautbezirken exzidierten Präparate wegen des Vergleichs mit den Aktivitäten in der Blasendecke, also weniger thermisch geschädigter Epidermis, zu diskutieren waren, fehlt den zuletzt genannten Meßdaten das entsprechende Pendant. Ob überhaupt und in welchem Ausmaß eine Verminderung der Enzymaktivität in der Epidermis, sprich hier Blasendecke, bei einer Verbrennung 2. Grades vorliegt, läßt sich nur eindeutig im Vergleich mit den im Abschnitt 5.1. besprochenen Normalwerten in pathologisch unveränderter Haut (Tabelle 3, Seite 27) feststellen.

Die in Tabelle 3 wiedergegebenen Normalwerte der Epidermis erscheinen graphisch aufgetragen in Abbildung 2 (Seite 43), dazu die entsprechenden mit  markierten Mittelwerte. Die schon ausgeführte zeichnerische Darstellung der Mittelwerte (Seite 37) mit der daraus ersichtlichen Streuung wird hier ebenfalls praktiziert. Die Mittelwerte der Meß-

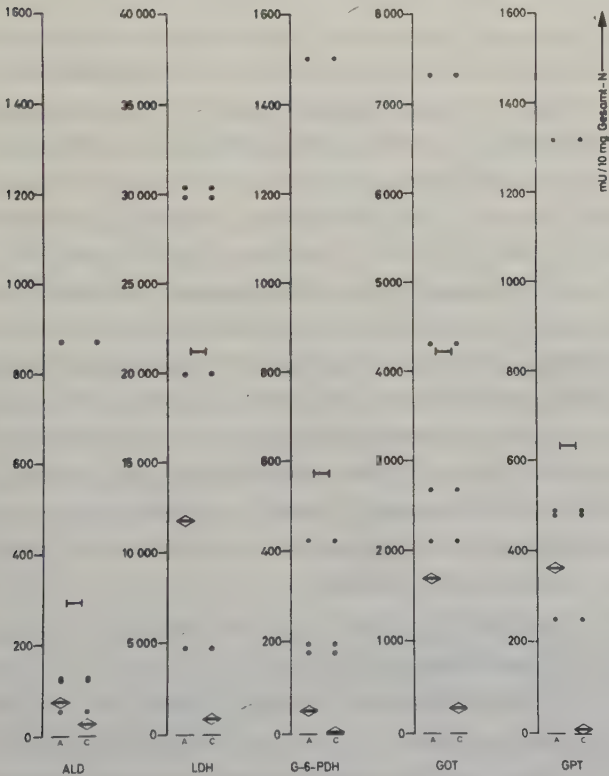
Tabelle 14

Mittelwerte der Meßreihen A und C (Tabelle 11, Seite 37) im Vergleich mit den Mittelwerten (N) der in normaler Epidermis gefundenen Aktivitäten (Tabelle 3, Seite 27), angegeben in "mU/10 mg Gesamt-N".

Enzym	A	N	C
ALD	75,35	293,42	23,96
LDH	11 750,91	21 209,11	885,48
G-6-PDH	50,32	573,13	1,30
GOT	1 689,27	4 105,61	268,88
GPT	362,42	635,18	11,71

Abbildung 2 Auftragung der in Tabelle 3 (Seite 27) eingetragenen Enzymaktivitätswerte in normaler Epidermis

Aktivitätseinheit mU/10 mg Gesamt-N
 ┃ arithmetischer Mittelwert der Meßdaten in normaler Epidermis (Tabelle 3)
 ◈ arithmetischer Mittelwert der Meßdaten in Rubrik A und C (Tabelle 11, Seite 37; Abbildung 1, Seite 35)



reihen A und C, symbolisiert als $\diamond$ (siehe Abbildung 1), wurden in Abbildung 2 mit hineinprojiziert. Tabelle 14 (Seite 42) gestattet den genauen zahlenmäßigen Vergleich der Mittelwerte bei zweit- und drittgradig verbrannter Haut (Tabelle 11, Seite 37) mit den Mittelwerten der Enzymaktivitäten in normaler Epidermis (N).

Bevor Abbildung 2 näher diskutiert wird ist es notwendig, die an verschiedenen Stellen (Seite 30/31, 36, 38) angeschnittene Frage über die Thermolabilität der Fermente und enzymatischen Mechanismen im Einzelnen zu erörtern.

Die Biochemie lehrt, daß die Enzyme auf Grund ihrer Eiweißnatur durch eine Anzahl von Besonderheiten ausgezeichnet sind. Hierher gehören vor allem der Einfluß des pH-Wertes und der Temperatur. Letztere spielt für die Geschwindigkeit eines biochemischen Reaktionsablaufes die gleiche Rolle wie für nichtkatalysierte Reaktionen. Denn auch bei Enzymreaktionen findet man bei je 10°C Erhöhung eine Steigerung der Reaktionsgeschwindigkeit um etwa das Zwei- bis Vierfache ($Q_{10} = 2$ bis 4). Als weiteren Einfluß der Temperatur auf die Wirkungsweise der Enzyme ist die mit steigenden Wärmegraden beginnende Denaturierung des Enzymeiweißes zu werten, die einen schnellen Abfall der Reaktionsgeschwindigkeit bedingt. Manche Enzyme werden bereits bei 40-50°C irreversibel geschädigt, nur wenige sind oberhalb 60°C noch aktiv. Wesentlich dabei ist aber zu wissen, daß dieser experimentellen Erfahrung – Abnahme des Temperaturkoeffizienten bei steigender Temperatur bedingt durch die Temperaturempfindlichkeit der Proteine – In-vitro-Versuche an Hand hochgereinigter Enzyme zu Grunde liegen.

Die ausgeführte Interpretation der Thermolabilität der Enzyme auf unsere Untersuchungen angewendet führt zu einigen Schwierigkeiten, da es sich hierbei nicht um einzelne hochgereinigte Enzyme sondern um ein ganzes Konglomerat von Enzymen handelt. Bei In-vivo-Untersuchungen erfaßt man mit der Temperatur nur einen Parameter des vielschichtigen Begrif-

fes der Thermolabilität. Das Meßergebnis gibt nicht darüber Auskunft, welche Ursache für den Aktivitätsverlust in Frage kommen könnte. Bei Versuchen mit hochgereinigten Enzymen muß wohl eine Änderung in der Tertiär- und Quartärstruktur und somit eine Veränderung des aktiven Zentrums der Enzymproteine als Begründung für den Aktivitätsverlust diskutiert werden. Ob dies auch für den Aktivitätsverlust eines in vivo untersuchten Enzymgemisches Gültigkeit besitzt kann nicht ohne weiteres angenommen werden. Exakte Aussagen über diesen Komplex könnten nur Untersuchungsmethoden liefern, die im Augenblick der gesetzten Läsion (hier Verbrennung) direkt am Ort der Zelle eingesetzt werden könnten. Dies müßte die Frage erhellen, ob das Enzym schlechthin einer unmittelbaren Hitzeeinwirkung am Zellort ausgeliefert ist oder andere noch unbekannte Kräfte mit ins Spiel kommen. Beim heutigen Stand des biochemischen Wissens kann letzten Endes nicht verbindlich gesagt werden, was sich tatsächlich hinter dem Begriff der Thermolabilität des Enzyms verbirgt (17).

Der Abbildung 2 (Seite 43) ist klar zu entnehmen, daß die Mittelwerte der gemessenen Aktivitäten bei gesunder Haut wesentlich höher liegen als bei verbrannter Epidermis. Damit bestätigt sich experimentell das, was wegen der Schwere des Krankheitsbildes bei Verbrennungen naheliegt: Die Enzymaktivitäten der 5 untersuchten Enzyme liegen je nach dem Grad der Verbrennung mehr (C) oder weniger (A) unter dem Normbereich der Aktivitäten bei gesunder Haut. Da aus Gründen der Fallzahl und den in Abschnitt 2.4.2. und 5.1. erläuterten Schwierigkeiten eine Signifikanzrechnung für die Normalwerte nicht angebracht ist, kann nur der signifikante Unterschied zwischen den Aktivitäten bei Verbrennungen 2. und 3. Grades auf Grund einer thermischen Schädigung als gesichert angenommen werden. Beim Vergleich mit den Normalwerten ist nur der Trend (siehe Abbildung 2) offensichtlich.

5.2.3. Vergleich der Ergebnisse mit den Untersuchungen von HERSHEY und MENDLE (15)

Enzymatische Untersuchungen mit einer unserer Arbeit ähnlichen Fragestellung, allerdings mit histochemischen Methoden, wurden von HERSHEY und MENDLE 1954 (15) durchgeführt (Abschnitt 2.5.). Zusammenfassend schrieben sie wörtlich folgendes: "Seven of these enzymes (6-phospho-gluconic dehydrogenase, purine nucleoside phosphorylase, aldolase, fumarase, malic dehydrogenase, lactic dehydrogenase and acid phosphatase) previously unknown in Human epidermis have been measured quantitatively. Three scalds were made with water at 50°C. for five minutes and removed onehalf to one hour after injury. Analysis of scalded and normal epidermis showed no significant change in aldolase, glucose-6-phosphate dehydrogenase, malic dehydrogenase or acid phosphatase" ((15), Seite 749). Daraus ersieht man, daß die Autoren damals ebenfalls keinen signifikanten Unterschied zwischen verbrannter und normaler Haut erkennen konnten. Damit stimmt ihr Ergebnis mit dem von uns gefundenen (Abschnitt 5.2.2.) überein. Denn auch wir konnten – aus verständlichen Gründen (Seite 45) – keinen signifikanten Unterschied zwischen den Enzymaktivitäten in normaler und verbrannter Haut aufzeigen, obwohl die thermische Schädigung unserer Patienten bei weitem höher war als die von Hershey und Mendle gesetzte Verbrennung. Trotzdem ist über diese Problematik das letzte Wort noch nicht gesprochen, besonders bei Heranziehung der Abbildung 2 (Seite 43), aus der eine nicht wegzuleugnende Tendenz der Mittelwerte N, A und C deutlich wird. Deshalb muß die von HERSHEY und MENDLE (15) gemachte Aussage etwas angezweifelt werden, weil wir innerhalb des Kollektivs der Verbrennungs-kranken einen signifikanten Unterschied zwischen den Aktivitäten in Hautbezirken mit einer Verbrennung 2. und 3. Grades feststellen konnten.

Diesen Knoten zu lösen würde verlangen, sich einmal repräsentativer Meßdaten als exakten Ausgangswert für die Enzymaktivität in normaler Epidermis zu bedienen, zum anderen eine direkte Abhängigkeit zwischen thermischer Schädigung und Enzymaktivität herbeizuführen.

Eine Fülle schwer beeinflubarer Faktoren sind die erste Schwierigkeit, auf die man stößt. Hierzu zählen in erster Linie individuelle und topische Faktoren; als weiterer Faktor wäre die Art und Weise der Einwirkung der verschiedenen Noxen (Tabelle 2, Seite 16) zu nennen mit etwa folgender Fragestellung: Inwieweit beeinflusst zum Beispiel die Geschwindigkeit, mit der eine Flamme die Epidermis trifft, oder der mit der Hautoberfläche gebildete Winkel, unter dem irgend ein brennendes Material auf die Haut einwirkt, den Aktivitätsverlust der Hautenzyme? Die genannten Faktoren sind wahrscheinlich verantwortlich für die große Streubreite der Meßwerte.

Daneben wäre entscheidend für die Beurteilung einer durch Hitzeeinwirkung geschädigten Epidermis die Durchführung von Aktivitätsmessungen, die von unterschiedlicher Temperatureinwirkung bei gleicher Zeit oder konstanter Temperatur bei variablem Zeitfaktor ausgingen. Somit wären weitere Kriterien für eine Reduzierung der biologischen Streuung gefunden.

So wäre es möglich, einen Maßstab aufzustellen, der über die lineare Abhängigkeit der in der geschädigten Epidermis gefundenen Enzymaktivitäten vom Grad der Schädigung Aufschluß gibt.

6. ZUSAMMENFASSUNG

Untersucht wurden bei 21 Verbrennungskranken in Blasendecke, Blasen-serum und drittgradig verbrannter Epidermis, sowie bei 4 Patienten in Dermatomhautlappen (= normale Haut) die Höhe der Enzymaktivitäten von Aldolase, Lactatdehydrogenase, Glucose-6-phosphatdehydrogenase, Glutamat-Oxalacetat-Transaminase und Glutamat-Pyruvat-Transamina-se. Die Aktivitätsbestimmungen erfolgten mit dem optischen Test nach WARBURG unter Verwendung von Enzymtestkombinationen.

Ergebnisse:

1. Beim Vergleich der Aktivitäten der einzelnen Enzyme in gesunder Epidermis rangieren die der LDH weit an erster Stelle, dann folgen die der Enzyme des Aminosäurestoffwechsels GOT und GPT und in einigem Abstand die der G-6-PDH und der ALD.

Als Ursache für die starke Streubreite dieser Enzymaktivitäten ist nicht so sehr der wechselnde Coriumanteil, sondern sind vielmehr individuelle und topische Faktoren anzuführen.

2. Trotz der thermischen Alteration der Epidermis wiesen die unter-suchten Enzyme relativ hohe Aktivitäten auf.

Die Höhe des jeweiligen Einzelwertes der Enzymaktivität aber besitzt keine spezielle Aussagekraft. Sie läßt nicht den Schluß auf die Art des untersuchten Materials (Epidermis, Hautblasenserum, Blasen-decke) und den Grad der thermischen Schädigung zu.

3. Die graphische Darstellung der arithmetischen Mittelwerte ergibt eine fallende Tendenz ausgehend von den Aktivitäten bei Verbrennun-

gen 2. Grades über das Blasenserum in Richtung drittgradig verbrannter Epidermis.

Die statistische Berechnung ergibt einen signifikant verschiedenen Unterschied zwischen den Enzymaktivitäten bei zweit- und drittgradig verbrannter Epidermis.

4. Die Epidermis unter pathologischen Bedingungen läßt das gleiche Enzymmuster wie unter normalen Umständen erkennen.
5. Es konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den Aktivitäten in normaler und verbrannter Haut gefunden werden.
6. Die Temperaturen, die das Hautorgan alterierten, waren teilweise sicherlich erheblich höher als jene ($40-50^{\circ}\text{C}$), die zu einem schnellen Abfall der Reaktionsgeschwindigkeit der Enzyme führen.

Es ist zu betonen, daß – entgegen allen bisherigen Ansichten über die Thermolabilität der Fermente und enzymatischen Mechanismen – die Enzymaktivitäten trotz Einwirkung extrem heißer Substanzen nicht erlöschten; sie blieben vielmehr in der verbrannten Haut in nicht unerheblicher Stärke bestehen.

7. ANHANG

I. Anmerkung zu Abschnitt 4.5. (Seite 25)

Der Umrechnungsfaktor "Eiweiß nach Stickstoff" beträgt 0,16.

$$\text{GEW (g\%)} = 10 \cdot \text{GEW (mg/ml)} \rightarrow \text{GEW (g\%)} = \text{GEW} \cdot 1,6 \left[\frac{\text{mg} \cdot N_2}{\text{ml}} \right]$$

Setzt man "10 mg Gesamt-N" als fixe Größe ein, so gilt:

$$F_N = \frac{10}{\text{GEW} \cdot 1,6} \left[\frac{\text{mg} \cdot N_2}{\text{mg} \cdot N_2} \cdot \text{ml} \right] \rightarrow F_N = \frac{6,25}{\text{GEW}} \quad (\text{ml})$$

II. Anmerkung zur Fehlerrechnung (Tabelle 12, Seite 39)

$\bar{x}$ = Mittelwert

(arithmetisches Mittel aus der
Summe der gefundenen Einzel-
werte)

s = Standardabweichung

(Streubreite des Einzelwertes)

s_s = mittlerer Fehler des Mittel-
wertes

(Streubreite der Mittelwerte)

$$\bar{x} = \frac{1}{n} \sum x_i$$

$$s = \pm \sqrt{\frac{\sum (\Delta x_i)^2}{n-1}},$$

wobei $\Delta x_i = \bar{x} - x_i$.

Der wahre Wert liegt bei $\bar{x} \pm s$.

$$s_s = \frac{s}{\sqrt{n}} = \pm \sqrt{\frac{\sum (x-M)^2}{n \cdot (n-1)}}$$

Der wahre Wert liegt bei $\bar{x} \pm s_s$.

Signifikant verschieden:

$$\bar{x}_1 - \bar{x}_2 > 3 s_{s1} \wedge 3 s_{s2}$$

Signifikant nicht verschieden:

$$\bar{x}_1 - \bar{x}_2 < 3 s_{s1} \vee 3 s_{s2}$$

III. Anmerkung zur Berechnung der Multiplikationsfaktoren

(Abschnitt 4.4.1., Seite 22)

Laut Definition gilt: $1 \frac{\text{U}}{\text{ml}} = \frac{1 \mu\text{mol Substratumsatz}}{1 \text{ min} \cdot 1 \text{ ml}}$

$$0,001 \frac{\text{U}}{\text{ml}} = 1 \frac{\text{mU}}{\text{ml}} = \frac{1 \text{ nmol Substratumsatz}}{1 \text{ min} \cdot 1 \text{ ml}}$$

Wesentlich für die Berechnung der Faktoren zur Ermittlung der Enzymaktivitäten ist die Tatsache, daß laut Definition die Bezugsgrößen "1 min" und "1 ml" sind.

Die Messungen wurden bei einer Wellenlänge von 366 nm ausgeführt. Hierbei beträgt der Extinktionskoeffizient ϵ von NADH und NADPH $3,3 \text{ cm}^2/\mu\text{mol}$ bzw. $3,3 \cdot 10^{-3} \text{ cm}^2/\text{nmol}$.

Nach dem Gesetz von LAMBERT-BEER ist $E = c \cdot d \cdot \epsilon'$ bzw. $c = E \cdot \frac{1}{d} \cdot \frac{1}{\epsilon'}$.

Da $d = 1 \text{ cm}$ ist, muß nur noch $1/\epsilon'$ bestimmt werden. Dieser Faktor hängt außer vom Extinktionskoeffizienten ϵ noch vom Testvolumen und vom Verdünnungsgrad der Untersuchungsflüssigkeit ab, da eine Bezugsgröße laut obiger Definition "1 ml" lautet.

$$\frac{1}{\epsilon'} = \frac{1}{3,3 \cdot 10^{-3}} \cdot (\text{Faktor der Verdünnung}) \cdot (\text{Testvolumen})$$

$$\rightarrow \frac{\text{mU}}{\text{ml}} = \frac{\Delta E}{\text{min}} \cdot \frac{1}{\epsilon'}$$

Mißt man in einem anderen Zeitintervall als "1 min", so muß der berechnete Multiplikationsfaktor $1/\epsilon'$ durch das jeweilige Vielfache von 1 Minute dividiert werden.

Bei unseren Messungen wurde die Extinktion immer in einem Zeitraum von 5 Minuten gemessen, um einen exakten linearen Abfall beziehungsweise Anstieg des NADH (NADPH) besser gewährleisten zu können.

Beispiel: Für LDH beträgt das Testvolumen 3,15 ml, der Faktor für die Verdünnung 10, da 0,10 ml Untersuchungsflüssigkeit benötigt werden (siehe Abschnitt 4.4.2., Seite 22).

$$\frac{1}{\epsilon'_{\text{LDH}}} = \frac{1}{3,3 \cdot 10^{-3}} \cdot 10 \cdot 3,15 = \frac{31\,500}{3,3} = 9\,550;$$

Somit gilt: $\frac{\Delta E}{\text{min}} \cdot 9\,550 = \frac{\text{mU}}{\text{ml}}$

8. LITERATURVERZEICHNIS

- (1) BEISENHERZ, G., H. J. BOLTZE, Th. BÜCHER, R. CZOK,
K. H. GARBADE, E. MEYER-ARENDT und G. PFLEIDERER
Z. Naturforsch. 8 b, 555 (1953)
- (2) BRAUN-FALCO, O.:
Beitrag zum histochemischen Nachweis von Esterasen in normaler und psoriatischer Haut.
Arch. klin. exp. Derm. 202, 153 (1956a)
- (3) BRAUN-FALCO, O.:
Zur histochemischen Darstellung von Glucose-6-Phosphatase in normaler Haut.
Derm. Wschr. 134, 1252 (1956b)
- (4) BRAUN-FALCO, O.:
Vortrag 24. Dtsch. Dermat.-Kongreß Düsseldorf 1958
Arch. klin. exp. Derm.
- (5) BRAUN-FALCO, O.:
Die Histochemie der Haut
In GOTTRON, H. A. und W. SCHÖNFELD: Dermatologie und Venerologie, Bd. I, p. 366 (Stuttgart, Thieme 1961)
- (6) BRAUN-FALCO, O. u. B. RATHJENS:
Histochemische Darstellung der Bernsteinsäure-Dehydrogenase in der menschlichen Haut.
Derm. Wschr. 130, 1271 (1954)
- (7) BRAUN-FALCO, O. u. B. RATHJENS:
Über die Bernsteinsäure-Dehydrogenase-Aktivität der Haut bei Psoriasis.
Arch. Derm. Syph. (Berlin) 199, 146 (1955)
- (8) BRAUN-FALCO, O. u. G. WEBER:
Zur Histo- und Biochemie des epidermalen Interzellularraumes unter normalen und pathologischen Verhältnissen.
Arch. klin. exp. Derm. 207, 459 (1958)
- (9) CRUICKSHANK, C. N. D., F. B. HERSHEY, and C. LEWIS:
Isocitric dehydrogenase activity of human epidermis.
J. invest. Derm. 30, 33 (1958)

- (10) FINDLAY, G. H.:
Succinic dehydrogenase in human epidermis.
Brit. J. Derm. 77, 88 (1965)
- (11) FREINKEL, R. K.:
Metabolism of glucose-C-14 by human skin in vitro.
J. invest. Derm. 34, 37 (1960)
- (12) GLASENAPP, V. I., und LEONHARDI, G.:
Die biologische Oxydation in der menschlichen Haut.
Arch. Derm. Syph. 196, 319 (1953)
- (13) GRIESEMER, R. D., and E. GOULD:
The intermediary carbohydrate metabolism of epidermis.
II. Assay for succinic dehydrogenase and cytochrome oxydase.
J. invest. Derm. 25, 383 (1955)
- (14) HERSHEY, F. B., G. LEWIS, J. MURPHY, and T. SCHIFF:
Quantitative histochemistry of human skin.
J. Histochem. Cytochem. 8, 41 (1960)
- (15) HERSHEY, F. B. and B. J. MENDLE:
Quantitative histochemistry of burned and normal skin.
Atlantic City; Surg. Forum 5, 745 (1954)
Proc. 40th. Cong. Am. Coll. Surgeons
- (16) HESS, B. und WALTER, S.-J.:
Über das Protein der Lactatdehydrogenase in menschlichen
Serum und Geweben.
Klin. Wschr. 38, 1080 (1960)
- (17) HILMANN, Prof. Dr., Vorstand des Chemischen Institutes der
Städtischen Krankenanstalten Nürnberg
Persönliche Mitteilung (mündlich)
- (18) International Union of Biochemistry, Report of the Commission on
Enzymes, Pergamon Press, Oxford, 1961;
International Union of Biochemistry, Enzyme Nomenclature,
Recommendations 1964, Elsevier, Amsterdam, 1965.
Entnommen aus: Wissenschaftliche Tabellen, J. R. GEIGY A. G.,
Pharma, Basel, 7. Auflage, 580 ff. (1968)
- (19) KARMEN, A. et al., J. clin. Invest. 34, 126 (1955)
- (20) KNAPP, A., R. MAUNE, K. FISCHER, K. FLEISCHMANN und
M. HOTHMANN:
Die Transaminasen in der menschlichen Haut.
Derm. Wschr. 147, 622 (1963)

- (21) KORNBERG, A. and B. L. HORECKER:
Methods in Enzymology I, edited by Sidney P. Colowick and
Nathan O. Kaplan, p. 323. Academic Press Inc., New York 1955
- (22) LEONHARDI, G. und G. K. STEIGLEDER:
Biochemie und Histochemie der Enzyme der Haut.
Aktuelle Probleme der Dermatologie, Bd. I, 47
Edit. Karger, Basel - New York
- (23) NEDWICH, A., I. H. SOKOLIC, J. FOREMAN and J. M. HOWARD:
Histochemical Observations of Second-degree Burns.
Journal Trauma (Baltimore) 4, 269 (1964)
Ref. Berichte Pathologie 67, 117 (1965)
- (24) PETERS, R. A.:
Biochemical lesion in thermal burns.
Brit. M. Bull., 3, 81 (1945)
- (25) PETTE, D. und Th. BÜCHER:
Proportionskonstante Gruppen in Beziehung zur Differenzierung
der Enzymaktivitätsmuster von Skelettmuskeln des Kaninchens.
Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 331, 180 (1963)
- (26) PETTE, D., M. KLINGENBERG and Th. BÜCHER:
Comparable and specific proportions in the mitochondrial enzyme
activity pattern.
Biochem. biophys. Res. Commun. 7, 425 (1962)
- (27) RASSNER, G.:
Zur enzymatischen Organisation des energieliefernden Stoff-
wechsels der normalen Meerschweinchenhaut.
II. Teil: Aktivitätsbestimmungen von Enzymen des energie-
liefernden Stoffwechsels.
Arch. klin. exp. Derm. 222, 391 (1965)
- (28) RASSNER, G.:
Aktivitätsmuster von Enzymen des energieliefernden Stoffwech-
sels in normaler menschlicher Epidermis und bei Psoriasis
vulgaris.
I. Mitteilung: Enzymaktivitätsbestimmungen in normaler mensch-
licher Epidermis und klinisch nicht veränderter Epidermis bei
Psoriasis vulgaris.
Arch. klin. exp. Derm. 225, 398 (1966)

- (29) RASSNER, G. und O. BRAUN-FALCO:
 Zur enzymatischen Organisation des energieliefernden Stoffwechsels der normalen Meerschweinchenhaut.
 III. Teil: Aktivitätsbestimmungen epidermaler Enzyme des Citronensäure-Cyclus und angeschlossener Reaktionen.
 Arch. klin. exp. Derm. 225, 170 (1966)
- (30) SALFELD, K.:
 Zur Frage des energieliefernden Stoffwechsels und des Aminosäuremetabolismus der alternden Haut.
 I. Mitt.: Methodischer Teil, Enzymatische Aktivität der Epidermis bei Jugendlichen und Erwachsenen mittleren Alters.
 Arch. klin. exp. Derm. 225, 82 (1966)
- (31) SALFELD, K.:
 Zur Frage des energieliefernden Stoffwechsels und des Aminosäuremetabolismus der alternden Haut.
 II. Enzymatische Aktivität der Epidermis Erwachsener im höheren Alter in Abhängigkeit von der Lokalisation.
 Arch. klin. exp. Derm. 225, 93 (1966)
- (32) SCOTT, E. J. van:
 Mechanical separation of the epidermis from the corium.
 J. invest. Derm. 18, 377 (1952)
- (33) STÜTTGEN, G. und WÜST, H.:
 Die Blasenbildung in den Hautschichten in fermentchemischer Sicht.
 Arch. klin. exp. Derm. 206, 403 (1957)
- (34) WEBER, G.:
 Über das Verhalten von Glutaminsäure-Oxalessigsäure-Transaminase im Blutserum und der Cantharidenblasenflüssigkeit bei Dermatosen.
 Derm. Wschr. 137, 257 (1958)
- (35) WEBER, G.:
 Über das Verhalten der Aldolase-Aktivität im Blutserum und der Hautblasenflüssigkeit bei Dermatosen.
 Derm. Wschr. 138, 737 (1958)
- (36) WEBER, G.:
 Glutaminsäure-Oxalessigsäure-Transaminase in pathologisch veränderter Hornschicht.
 Klin. Wschr. 37, 234 (1959)

- (37) WEBER, G.:
Die Enzyme der Epidermis.
XII. Int. Kongreß für Dermatologie Washington 1962
Excerpta Medica Foundation Amsterdam
Proc. Internat. Congr. Dermat. p. 376 (1963)
- (38) WEBER, G.:
Some aspects of the carbohydrate metabolism enzymes in the
human epidermis under normal and pathological conditions.
In MONTAGNA, W., and W. C. LOBITZ: The Epidermis, p. 453
New York: Academic Press, Inc. 1964
- (39) WEBER, G.:
Enzymatische Mechanismen bei Psoriasis vulgaris.
Arch. klin. exp. Derm. 227, 185 (1966)
- (40) WEBER, G. und G. SIEBERT:
Arch. klin. exp. Derm. 202, 51 (1955)
- (41) WEBER, G. und I. WILDNER:
Über die Milchsäuredehydrogenase-Aktivität im Blut und der
Hautblasenflüssigkeit bei Dermatosen.
Derm. Wschr. 138, 767 (1958)
- (42) WEBER, G. und H. THEISEN:
Zur Frage des Verhaltens der Glutaminsäure-Brenztraubensäure-
Transaminase im Blut- und Hautblasenserum bei Ekzem und
bullösen Dermatosen.
Arch. klin. exp. Derm. 208, 93 (1959)
- (43) WEBER, G. und H. THEISEN:
Zum Nachweis enzymatischer Mechanismen in menschlicher
Epidermis am Modell der subepidermalen Blase.
Arch. klin. exp. Derm. 208, 459 (1959)
- (44) WEBER, G. und W. GÜRTLER:
Zur Frage der Veränderung isoliert strömenden Blutes durch
Röntgenstrahlen.
Strahlentherapie (1959)
- (45) WEBER, G. and G. PFLEIDERER:
Isoenzymes in the Human Epidermis.
Annals of the New York Academy of Sciences, 94, 933 (1961)

- (46) WEBER, G. und G. W. KORTING:
Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase in Human Skin.
The Journal of Investigative Dermatology, 42, 167 (1964)
- (47) WEICHSELBAUM, T. E. :
Amer. J. clin. Path. (Techn. Sect.) 10, 40 (1946)
FRANK, H. und KOECHER, P. H. :
D. Arch. Klin. Med. 197, 181 (1950)
KIBRICK, A. C. und BLONSTEIN, M. :
J. biol. Chem. 176, 983 (1948)
- (48) WIELAND, Th., PFLEIDERER, G., HAUPT, J. und W. WÖRNER:
Über die Verschiedenheit der Milchsäuredehydrogenasen, IV.
Biochem. Ztschr. 332, 1 (1959)
- (49) WOHLGEMUTH, J. und KLOPSTOCK, E. :
Atmung und Glykolyse der Haut und ihre Beeinflussung durch
Hormone.
Biochem. Ztschr. 175, 202 (1926)
- (50) WOHLGEMUTH, J. und NAKAMURA, Y. :
Die Fermente der Haut.
Biochem. Ztschr. 173, 258 (1926)
- (51) WRÓBLEWSKI, F. und J. S. LADUE:
Proc. Soc. exp. Biol. Med. 90, 210 (1955)
- (52) WRÓBLEWSKI, F. und J. S. LADUE:
Proc. soc. exp. Biol. Med. 91, 569 (1956)
- (53) WÜST, H. :
Über die Aldolaseaktivität der Haut.
Arch. klin. exp. Derm. 203, 15 (1956)

Für das Überlassen dieses Themas und das mir gezeigte wohlwollende Entgegenkommen bei der Fertigstellung der Arbeit darf ich an dieser Stelle Herrn Prof. Dr. med. G. WEBER ganz besonders danken.

Auch Frau M. RHEINWALD, die mir bei der technischen Durchführung mit ihrem Rat zur Seite stand, möchte ich meinen herzlichen Dank aussprechen.

Weiterhin darf ich Herrn Dr. med. H. STETTER vom Pathologischen Institut der Stadt Nürnberg danken, der sich um die Anfertigung der histologischen Präparate bemühte.

Nicht unerwähnt lassen möchte ich die freundliche Unterstützung seitens der Mitarbeiter der Hautklinik im Beschaffen des Untersuchungsmaterials.

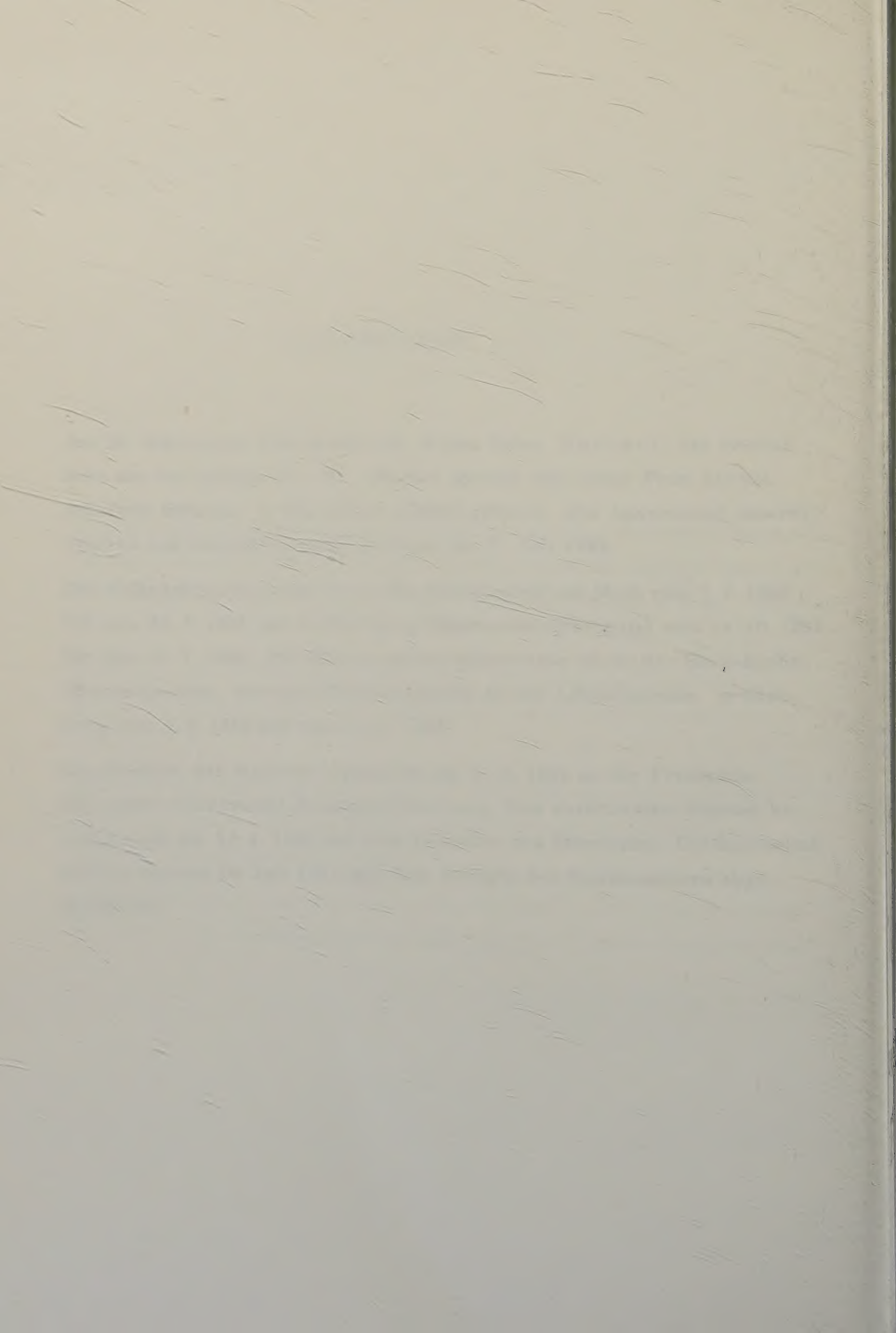
Dank des außerordentlichen Entgegenkommens von seiten der Mitarbeiter der Firma IBM (Geschäftsstelle Nürnberg, Frauentorgraben 5) war es mir möglich, die schriftliche Ausgestaltung dieser Arbeit durchzuführen.

LEBENS LAUF

Am 20. September 1944 wurde ich, Klaus Peter Spiegel, als zweiter Sohn des Apothekers Ph. Mr. Werner Spiegel und seiner Frau Aloisia, geborene Böhmer, in Warnsdorf (CSSR) geboren. Die Ausweisung unserer Familie aus dem Sudetenland erfolgte am 2. Juli 1948.

Die Volksschule besuchte ich in Marktheidenfeld am Main vom 1. 9. 1950 bis zum 28. 9. 1955 und in Nürnberg (Bismarckvolksschule) vom 15. 10. 1955 bis zum 14. 7. 1956. Die Oberschulzeit absolvierte ich an der Hans-Sachs-Oberrealschule, vormals Oberrealschule an der Löbleinstraße, in Nürnberg vom 4. 9. 1956 bis zum 20. 7. 1965.

Das Studium der Medizin begann ich am 2. 11. 1965 an der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg. Das vorklinische Studium beendigte ich am 30. 4. 1968 mit dem Bestehen des Physikums. Die klinischen Studien wurden im Juli 1971 mit dem Ablegen des Staatsexamens abgeschlossen.



Offsetdruck-Fotodruck

J. Hogl, 8520 Erlangen Hauptstr. 109, (Nähe Martin-Luther-Platz) Tel. 22990